

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA

1. lékařská fakulta

**Charakterizace vrozených alterací genů podmiňujících vznik a prognózu
dědičných forem vybraných nádorů dospělého věku**

**Characterization of germline alterations affecting genes influencing
development and prognosis of specific adult cancers**

Mgr. Sandra Jelínková

2024

Prohlášení:

Doktorské studijní programy v biomedicíně

Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Biochemie a patobiochemie

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D.

Školící pracoviště: Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1.LF UK

Školitel: prof. MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
Teoretický úvod	6
Cíle práce	8
Metody	9
Výsledky	10
Vyšetření pacientů s melanomem	10
Vystření pacientek s karcinomem endometria	10
Vyšetření pacientek s karcinomem ovaria	11
Vyšetření pacientů s hepatocelulárním karcinomem	12
Diskuse	13
Melanom	Chyba! Záložka není definována.
Karcinom endometria	Chyba! Záložka není definována.
Karcinom ovaria	Chyba! Záložka není definována.
Hepatocelulární karcinom	Chyba! Záložka není definována.
Závěr	18
Seznam použité literatury	19

Abstrakt

Ve své disertační práci jsem se věnovala studiu genetické predispozice vybraných nádorových onemocnění, jejichž příčiny nebyly v ČR dosud systematicky studovány.

Pro identifikaci dědičných patogenních variant jsme použili panelové sekvenování nové generace. Analýza 1333 pacientek s karcinomem ovaria, 527 pacientek s nádory endometria a 334 pacientů s hepatocelulárním karcinomem zahrnovala sekvenování s využitím panelu CZECANCA. Pro analýzu 264 pacientů s melanomem jsme připravili specifický panel CZMELAC. Primárně jsme se zaměřili na identifikaci nosičů patogenních variant ve známých predispozičních genech pro jednotlivá onemocnění, následně jsme hodnotili i vliv kandidátních genů a charakteristiky odlišujících nosiče patogenních variant od nenosičů.

Analýza vysoce rizikových pacientů s melanomem odhalila patogenní varianty v genech asociovaných s melanomem u 9/264 (3,4 %) nemocných, dalších 22 (8,3 %) pacientů neslo patogenní variantu v některém z dalších predispozičních genů. Pravděpodobnost záchytu patogenní varianty zvyšoval mnohočetný výskyt melanomu u probanda a výskyt onemocnění v rodině. Zcela nejčastější byl výskyt germinálních patogenních variant ve studii zaměřené na karcinom ovaria, kde jsme patogenní varianty našli u 427/1332 (32,0 %) pacientek s převahou mutací v *BRCA1*, *BRCA2*, následovaných dalšími ovariálními predispozičními geny. Nádorová duplicita karcinomu prsu a ovaria u probandek a přítomnost karcinomu ovaria v rodinné anamnéze byla nejsilnějším faktorem indikujícím přítomnost patogenní varianty, avšak i u pacientek bez pozitivní rodinné anamnézy jsme zachytili 20 % patogenních variant. Studie pacientek s karcinomem endometria identifikovala nosičky patogenních variant u 60/527 (11,4 %) případů, rozdělených přibližně stejnoměrně na nosičky alterací v genech spojených s karcinomem prsu a ovaria a nosičky mutací v genech Lynchova syndromu, u nichž jsme však zaznamenali významně vyšší riziko vzniku onemocnění v signifikantně nižším věku. Přítomnost jakéhokoliv nádorového onemocnění v rodině se vyznačovala zvýšenou pravděpodobností záchytu patogenní varianty. Analýza souboru pacientů s hepatocelulárním karcinomem zachytila přítomnost příčinné patogenní varianty v genech asociovaných s hepatocelulárním karcinomem pouze u 7/334 (2,1 %) pacientů což ukazuje, že analýza nádorové predispozice u této diagnózy není klinicky výtěžná.

Výsledky disertační práce přispěly ke zmapování nádorové predispozice studovaných nádorových onemocnění v ČR a umožnily identifikaci fenotypových charakteristik rizikových pacientů, což může přispět k lepší diagnostice a prevenci studovaných nádorových onemocnění.

Klíčová slova: hereditární nádorová predispozice, melanom, zhoubné nádory endometria, karcinom ovaria, hepatocelulární karcinom, panelové sekvenování, sekvenování nové generace, zárodečné varianty

Abstract

In my dissertation, I studied the genetic predisposition of selected types of cancer that have not been systematically studied in the Czech Republic.

We used next-generation panel sequencing to identify germline pathogenic variants. Analysis of 1333 patients with ovarian cancer, 527 patients with endometrial cancer, and 334 patients with hepatocellular carcinoma included sequencing using the CZEKANCA panel. A specific CZMELAC panel was prepared for the analysis of 264 melanoma patients. We focused on the identification of pathogenic variants in known predisposition genes. We also evaluated candidate genes and phenotypic characteristics in carriers of pathogenic variants.

Analysis of high-risk melanoma patients revealed pathogenic variants in melanoma-associated genes in 9/264 (3.4%) patients, and an additional 22 (8.3%) patients carried a pathogenic variant in one of the other predisposition genes. The odds of carrying a pathogenic variant were increased in probands with multiple melanomas and in the presence of melanoma in relatives. The incidence of germline pathogenic variants was highest in ovarian cancer, where pathogenic variants were found in 427/1332 (32.0%) patients, with a predominance of mutations in *BRCA1*, *BRCA2*, followed by alterations in other ovarian predisposition genes. Breast and ovarian cancer tumor duplicity and the presence of a family history of ovarian cancer were the strongest factors indicating the presence of a pathogenic variant, but we also detected 20% of pathogenic variants in patients without a positive family history. In a study of patients with endometrial cancer, carriers of pathogenic variants were identified in 60/527 (11.4%) cases, divided approximately equally between carriers of alterations in genes associated with breast and ovarian cancer and carriers of pathogenic variants in Lynch syndrome genes, which have a significantly higher risk of endometrial cancer at a significantly younger age. The presence of any cancer in the family was associated with an increased probability to carry a pathogenic variant. Analysis of patients with hepatocellular carcinoma detected the presence of a pathogenic variant in hepatocellular carcinoma-associated genes in only 7/334 (2.1%) patients, indicating that analysis of tumor predisposition is not clinically informative in this diagnosis.

The results of this work contributed to the mapping of tumor predisposition in the studied cancers in the Czech Republic and the identification of phenotypic characteristics of high-risk patients, which may contribute to their improved diagnostics and prevention.

Key words: hereditary cancer predisposition, melanoma, endometrial cancer, ovarian cancer, hepatocellular cancer, panel sequencing, next generation sequencing, germline variants

Teoretický úvod

Nádorová onemocnění jsou druhou nejčastější příčinou úmrtí v České republice [1]. Většina nádorových onemocnění jsou tzv. sporadická nádorová onemocnění (90-95 % případů), která vznikají na základě somatických mutací v genomové DNA získaných v průběhu života [2]. Malou, ale klinicky významnou část (5-10 %) zhoubných nádorů tvoří dědičná nádorová onemocnění vznikající v důsledku přítomnosti germinální patogenní varianty v některém z e známých nádorových predispozičních genů [3, 4]. Klinický význam dědičných nádorů zvyšují jejich typické charakteristiky, mezi kterými dominuje časný nástup nemoci, opakovaný či vícenásobný výskyt onkologického onemocnění u nosiče patogenní mutace a vysoký výskyt nádorových onemocnění v rodině [3, 5]. Pravděpodobnost, s jakou nosič patogenní varianty v nádorově predispozičním genu vyvine dané nádorové onemocnění se označuje jako penetrance. Na základě míry zvýšení rizika se nádorově predispoziční geny rozdělují do skupin genů s vysokou, střední a nízkou penetrancí [6, 7].

Melanom je maligní novotvar melanocytů, které se nachází v bazální vrstvě epidermis. Incidence melanomu v posledních letech roste, přičemž nejvíce melanom postihuje europoidní rasu (a to zejména v Austrálii, Novém Zélandu a USA) [8]. V roce 2021 byla incidence melanomu v ČR 24,1/100 000 obyvatel (www.svod.cz). Zatímco mortalita v tomto roce byla 3,68/100 000 (www.svod.cz). Melanom je rozdělen na základě mutací v genech podle mezinárodní skupiny The Cancer Genome Atlas Network, která definuje čtyři typy melanomu na základě přítomnosti mutací v *BRAF* (více než 50 % případů), *RAS*, *NF1* a (nejméně častý) tzv. triple wild type (bez mutací v uvedených genech) [9, 10]. Mezi rizikové faktory vzniku melanomu patří vystavení ultrafialovému (UV) záření, dále množství, typ a uspořádání kožního melaninu a výskyt atypických névů [11]. Podíl familiárního melanomu je přibližně 5-10 % ze všech melanomů. Pravděpodobně nejdůležitějším predispozičním genem pro melanom je *CDKN2A*, následuje *CDK4* a *BAP1*. Další skupinou predispozičních genů melanomu tvoří geny kódující proteiny shelterinového komplexu *POT1*, *ACD*, *TERF1*, *TERF2*, *TINF2* a *TERF2IP* [12] a *TERT*. Mezi predispoziční geny pro vznik melanomu můžeme zařadit i skupinu genů kódujících proteiny, které se účastní syntézy melaninu v melanocytech: *MC1R*, *MITF*, *OCA2*, *SLC45A2* [13].

Karcinomy endometria jsou nejčastější gynekologické nádory ve vyspělých zemích [8]. Incidence má rostoucí tendenci pravděpodobně v důsledku prodlužující se délky života, delšího aktivního hormonálního období ženy a civilizačních chorob [14]. Incidence v ČR v roce 2021 činila 33,9/100 000 obyvatel (www.svod.cz) a mortalita byla 6,2/100 000 obyvatel (www.svod.cz). V roce 2013 konsorcium The Cancer Genome Atlas Network publikovalo výsledky studie rozdělující karcinom endometria do čtyř skupin na základě počtu mutací [15]. První skupinou jsou CNH (copy number high) nádory. s vysokým množstvím rozsáhlých duplikací či delecí a plošných genomových alterací, nádory s mikrosatelitovou nestabilitou (MSI), nádory se somatickými mutacemi v *POLE* a CNL (copy number low) nádory, charakterizované nízkým výskytem genomových přestaveb. Rizikové faktory karcinomu endometria zahrnují věk pacientky nad 55 let, obezitu, raný věk menarche, pozdní věk menopauzy, přítomnost diabetu mellitu II. typu, dlouhodobé

vystavení endogenním i exogenním estrogenům, nuliparitu či nízkou paritu a genetické predispozice [14]. Naprostá většina případů karcinomu endometria je sporadického původu, zhruba 3,5 % je tvořeno dědičnými formami, nejčastěji je karcinom endometria asociován s variantami v genech Lynchova syndromu (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* a *EPCAM*) [16].

Karcinom ovaria (OC) je závažné nádorové onemocnění s velkým podílem hereditárních forem. Karcinom ovaria představuje typicky pozdně diagnostikované onemocnění (nejčastěji ve stádiu III a IV), což se projevuje na mnohem méně příznivé prognóze [17]. V ČR jeho incidence v roce 2021 činila 17,3/100 000 obyvatel (www.svod.cz) a mortalita v roce 2021 byla 11,6/100 000 obyvatel (www.svod.cz). Asi 90 % případů jsou nádory epiteliálního původu a zbývajících 10 % jsou neepiteliální nádory. Epiteliální karcinomy můžeme rozdělit do pěti hlavních histologických podtypů. Prvním typem jsou high-grade serózní karcinomy (HGSC, 70 %), následují endometroidní (10 %), světlobuněčný (přibližně 10 %), mucinózní (3 %) a low grade serózní karcinom (LGSC; 5 %) [18]. Celoživotní riziko ovariálního karcinomu je ve vyspělých zemích asi 1,1 % [17] a je pozitivně spojeno s celoživotními ovulačními roky a paritou [19]. Dalšími rizikovými faktory jsou věk či používání postmenopauzální hormonální terapie [20]. Relativní riziko rozvoje karcinomu ovaria se může až třikrát zvýšit v případě pozitivní rodinné anamnézy, která je u pacientek s karcinomem ovaria nejvýznamnějším rizikovým faktorem [21]. Karcinom ovaria je součástí syndromu dědičného karcinomu prsu a ovaria. Podle aktuálního doporučení NCCN Guidelines (Version 1.2023) můžeme predispoziční geny rozdělit na geny s prokázaným zvýšením rizika – *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIPI*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11* a geny s možným zvýšením rizika – *ATM*, *BARD1*, *NBN*, a *PALB2*.

Hepatocelulární karcinom (HCC) je nejčastější maligní nádor jater. Jeho vznik je úzce spjat především s chronickým jaterním onemocněním (cirhózou či chronickou hepatitidou) [8, 22]. Jeho výskyt stoupá s věkem a vrcholí kolem 70. roku života [8]. V České republice v roce 2021 incidence činila 9,41/100 000 obyvatel (www.svod.cz) a mortalita činila 8,41/100 000 obyvatel (www.svod.cz). Mezi rizikové faktory hepatocelulárního karcinomu patří infekce hepatitidou typu B a C (HBV, HCV), chronická konzumace alkoholu, diabetes mellitus II. typu, nealkoholická steatóza jater (NASH), nebo vzácná metabolická onemocnění, (hereditární hemochromatóza nebo deficiencie α 1-antitrypsinu) [23]. V porovnání s ostatními nádory jsou hereditární nádory jater poměrně vzácné [24]. Nicméně dvě nedávné studie překvapivě popsaly výskyt dědičné predispozice u přibližně 12 % pacientů s hepatocelulárním karcinomem. [25, 26].

Cíle práce

Cílem této disertační práce bylo charakterizovat genetické predispozice spojené s výskytem:

1. melanomu,
2. karcinomu endometria,
3. karcinomu ovaria,
4. hepatocelulárního karcinomu

Tedy nádorových onemocnění, u kterých byla doposud genetická komponenta vysoce a středně penetrantních genů v ČR studována nesystematicky či vůbec. Práce si kladla za cíl identifikovat zárodečné patogenní varianty v predispozičních genech k těmto onemocněním u pacientů v ČR a popsat základní fenotypové charakteristiky, které by mohly přispět k lepší identifikaci těchto vysoce rizikových jedinců v České republice.

Práce řešila následující dílčí úkoly:

- Stanovení frekvence a identifikace zárodečných variant ve známých nádorově predispozičních genech a v kandidátních genech pro pacienty s melanomem, karcinomem endometria, ovaria a hepatocelulárním karcinomem.
- Srovnání klinicko-patologických charakteristik u nosičů zárodečných patogenních variant s pacienty, kteří byli bez mutací.
- Určení rizika vzniku daného nádorového onemocnění se zárodečnými patogenními variantami v jednotlivých genech.

Výsledky této disertační práce mohou poskytnout porozumění genetickým predispozicím spojených s dědičnými formami melanomu, karcinomu endometria, ovaria a hepatocelulárního karcinomu, což může přispět k lepší diagnostice či prevenci těchto nádorů v České republice.

Metody

Práce zahrnuje čtyři různé skupiny pacientů se studovanými nádorovými onemocněními – karcinomem ovaria (1333 pacientek), endometria (527 pacientek), melanomem (264 pacientů) a hepatocelulárním karcinomem (334 pacientů). Všichni pacienti poskytli informovaný souhlas s účastí na studii schválený Etickými komisemi. Nalezené patogenní varianty byly porovnávány se dvěma soubory kontrol (nenádorovými kontrolami a populačními kontrolami).

Analýza vzorků genomové DNA izolované z periferní krve byla prováděna pomocí panelového sekvenování nové generace. Pro studium karcinomu endometria, ovaria a hepatocelulárního karcinomu byl použit panel CZECANCA (www.czecanca.cz) [27]. Pro studii pacientů s melanomem byl použit panel CZMELAC, který byl navržen v rámci našeho pracoviště pomocí programu NimbleDesign (Roche) a cílil na 217 genů včetně genů s vysokým až středním a nízkým rizikem pro vznik melanomu, geny kandidátní pro nádorová onemocnění a geny s neznámým vlivem na melanom či geny spojené s melanomem. Pro přípravu knihovny byly použity komerční kity KAPA HyperPlus (Roche) dle instrukcí výrobce (KAPA, Biosystems, Roche). Cílové geny jsme podle studovaného onemocnění rozdělili na predispoziční geny a ostatní kandidátní geny.

V rámci melanomové studie všechny RNA izolované od pacientů s melanomem byly izolovány z periferní krve nebo z leukocytů. Sestříhové varianty byly analyzovány pomocí metody RNA NGS s použitím panelu CZMELAC a následně byly podrobeny bioinformatickému zpracování, tak jak bylo popsáno dříve [28].

Sekvenační data získaná ze sekvenátoru byla zpracována bioinformatickou skupinou vedenou Mgr. Petrou Zemánkovou Ph.D. v naší laboratoři, jak byl uvedeno v předchozí studii [27]. Porovnání frekvence zárodečných patogenních variant pacientů a kontrol bylo provedeno pomocí Fisherova přesného testu či pomocí χ^2 testu.

Přítomnost patogenní genetické varianty, která byla detekována pomocí NGS analýzy, byla potvrzena Sangerovým sekvenováním nebo pomocí MLPA (Multiplex ligation dependent probe amplification) s využitím příslušných kitů od MRC Holland.

Výsledky

Vyšetření pacientů s melanomem

Pomocí NGS panelu CZMELAC byly zachyceny mutace ve vysoce a středně penetrantních genech pro melanom u 9/264 (3,4 %) pacientů. Nejvyšší četnost PV byla nalezena u genu *CDKN2A*, kde jsme zachytili patogenní varianty u šesti pacientů. U dvou pacientů jsme identifikovali dvě varianty v genu *POT1*. c.703-1G>C (r.703_869del167, p.Val235GlyfsTer22) a c.347C>T (p.Pro116Leu). Funkční analýza prokázala, že POT1-P116L je sice schopen interakce se svým vazebným partnerem v shelterinovém komplexu, proteinem ACD, avšak ztrácí schopnost vazby na telomerázovou DNA. Jeden pacient nesl mutaci v genu *ACD* c.755delA (p.Asp255AlafsTer9), v tomto genu byla nalezena také pravděpodobně patogenní varianta v kontrolní skupině. V genech s nízkým rizikem vzniku melanomu bylo nalezeno celkem 12 nosičů mutací v pěti genech, které patrně nezvyšují riziko vzniku melanomu klinicky významným způsobem, nicméně frekvence výskytu u pacientů oproti kontrolám byla vyšší v genech *TYRP1* a *OCA2*. Celkem u 22/264 (8,3 %) pacientů a 57/1479 kontrol (3,9 %) byly nalezeny patogenní varianty v dalších nádorových predispozičních genech, a to zejména v genu *NBN* (OR=10; 95%CI 2,5-47,0; $p=3,2 \times 10^{-4}$) a *BRCA2* (OR=9,5; 95%CI 1,8-61,4; $p=0,003$), které vykazovaly nejsilnější asociaci s melanomem. Patogenní varianty v dalších 23 genech byly nalezeny u 28/264 (10,7 %) pacientů a 132/1479 (8,9 %) kontrol ($p=0,4$), což naznačuje, že tyto geny pravděpodobně se zvýšeným rizikem vzniku melanomu významně nesouvisejí.

Za hlavní klinicko-patologické charakteristiky nosičů PV patřila zvýšená frekvence pacientů s mnohočetným melanomem nebo dvěma primárními tumory u nosiči mutací genů s vysokým až středním rizikem a signifikantní nárůst podílu nosičů mutací u pacientů s mnohočetným melanomem. Celkem 14/89 (16 %) pacientů, kteří měli více než jeden tumor v osobní anamnéze bylo nosiči patogenních variant v klinicky relevantním genu (geny s vysokým až středním rizikem, nebo geny pro nádorové hereditární syndromy), v porovnání s 10/164 (6 %) nosiči u pacientů s jedním melanomem ($p=0,023$). Nádorová duplicita (ne pouze melanomová) u probandů zvyšuje riziko nosičství patogenní varianty (OR=2,9; 95%CI 1,2-6,8). Pozitivní rodinná nádorová anamnéza nezvyšovala riziko nosičství mutace, nicméně prevalence mutací u pacientů s pozitivní nádorovou anamnézou (24/196 nosičů; 12 %) překročila limit 10 % pro zařazení ke genetickému testování (4/47, 8,5 % pozitivně testovaných pacientů bez rodinné nádorové anamnézy; $p=0,6$).

Vyšetření pacientek s karcinomem endometria

V rámci studie jsme analyzovali 527 pacientek s nádory endometria, které zahrnovaly 249 pacientek splňujících indikační kritéria pro genetické testování Lynchova syndromu (LS), syndromu dědičného karcinomu prsu a ovaria (HBOC), nebo obou (LS + HBOC) a 278 vzorků od pacientek, která daná kritéria nespĺňovala. Patogenní varianty v genech pro LS byly nalezeny u 27/527 (5,1 %) pacientek (polovina z nich byly nosičky PV v genu *MSH6*) a u 4/1662 (0,25 %) kontrol, což ukazuje, že varianty v genech LS představují

nejvyšší genetické riziko karcinomu endometria ($OR=22,4$; $p=1,8 \times 10^{-17}$). Geny *BRCA1*, *BRCA2* a *CHEK2* měly největší frekvenci PV z HBOC genů a jejich výskyt u pacientek s tumory endometria byl signifikantně vyšší než u kontrol. Podíl patogenních variant u pacientek s karcinomem endometria, které splňují kritéria pro LS, HBOC nebo obou syndromů, byl podobný (16,6 %, 18,8 % a 18,3 %), avšak trojnásobný v porovnání s pacientkami, která kritéria pro testování nesplňovala (6,1 %). Podle očekávání byl nejvyšší podíl PV v LS genech (11,3 %) ve skupině pacientek splňující kritéria jeho testování. Stejně tomu bylo i u pacientek s PV v HBOC genech. Zatímco alterace v genech s vysokou penetrancí (*MLH1*, *MSH2* a *BRCA1*) dominovaly ve skupině pacientek splňujících obě kritéria (LS+HBOC), skupina pacientek neindikovaných na základě příslušnosti k těmto kritériím se vyznačovala četnější přítomností v genech se střední penetrancí (*MSH6* a *ATM*). Ve zbývajících kandidátních genech byly nalezeny PV ve 48/207 genech. Frekvence těchto variant byla vyšší u pacientek s karcinomem endometria (66/527; 12,5 %) než u kontrol (139/1662; 8,4 %; $p=0,004$). Nejčastější byly varianty v genu *MUTYH* (monoalelické varianty u 5/467; 1,1 %) a *FANCA* (4/467; 0,8 %). Jejich frekvence se však nelišily od kontrol (*MUTYH* – 18/1616; 1,1 %; *FANCA* – 10/1616; 0,6 %). Tři pacientky nesly zárodečné trunkační varianty v genech *POLE* či *POLD1* (2× *POLE* a 1× *POLD1*).

Medián věku v době diagnózy nádoru endometria byl signifikantně nižší u pacientek s variantami v genech LS oproti nenosičkám (51,0 let vs. 61,4 let; $p=0,01$). Celková frekvence PV v predispozičních genech pro nádory endometria byla stejná u pacientek s karcinomy i sarkomy (39/349; 11 % vs. 4/40; 10 %), avšak sarkomy se nevyskytovaly u pacientek s PV v genech LS. Nosičky patogenních variant v genech pro HBOC byly dle očekávání nejvíce zastoupeny u pacientek s karcinomem endometria a karcinomem ovaria/prsu. Z pohledu rodinné anamnézy bylo nejvyšší zastoupení nosiček PV v predispozičních genech pro nádory endometria a u malé skupiny pacientek s výskytem karcinomu ovaria nebo u pacientek s vícečetným výskytem nádorů v rodinné anamnéze.

Vyšetření pacientek s karcinomem ovaria

Do analýzy bylo zařazeno 1333 pacientek s nádory ovaria, u kterých jsme zaznamenali 427 (32,0 %) nosiček patogenních variant v některém z nádorových predispozičních genů. Nosičky zárodečných mutací v genech *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *NBN*, *RAD51D* a *RAD51C* měly signifikantně zvýšené riziko vzniku karcinomu ovaria. Zárodečné varianty v genech *BRCA1* nebo *BRCA2* dominovaly a byly přítomny u 323/1320 (24,5 %) pacientek a u 12/2278 (0,5 %) populačních kontrol. CNV analýza u 18 OC/BC genů odhalila celkem 37 velkých genomických přestaveb u 37/1333 (2,8 %) pacientek, které postihovaly sedm genů (23× *BRCA1*, 4× *BRIP1*, 4× *CHEK2*, 2× *MLH1*, 2× *STK11*, 1× *PALB2* a 1× *CDH1*) u populačních kontrol nalezena žádná CNV varianta.

Nejvyšší frekvence mutací byla nalezena u pacientek diagnostikovaných s ovariálním karcinomem ve věkovém rozmezí 40-49 (37,4 %) a 50-59 (40,7 %) let, zatímco

překvapivě nejnižší frekvence mutací byla zaznamenána u mladých žen ve věku pod 30 let. Rozdíl byl způsoben zejména mutacemi v genech *BRCA1/BRCA2*, s výrazně nižším zastoupením nosiček u mladých pacientek (3,6 % pro pacientky pod 30 let a 18,1 % pro pacientky nad 70 let). Medián věku diagnózy u nosiček patogenních variant v genech *BRCA1* a *BRCA2* byl signifikantně rozdílný (51,0 let vs. 58,4 let; $p=8,5 \times 10^{-10}$). Medián věku diagnózy postupně narůstal u nosiček patogenních variant v genech *RAD51C* (52,2 let), *NBN* (54,5 let), *RAD51D* (56,0 let) a *BRIP1* (58,0 let). Nejmladší skupinou byly pacientky s patogenními variantami v genech LS, kde medián činil 46,0 let.

Vysoký podíl mutací (109/203; 53,7 %) byl detekován u pacientek s ovariálním karcinomem a karcinomem prsu, zatímco pacientky pouze s nádorovou duplicitou zahrnující ovariální karcinom a jakýkoliv jiný nádor kromě nádoru prsu byl nižší. Frekvence mutací u pacientek z rodin s ovariálním karcinomem (HOC) byla 49,1 % (57/116). Klesající podíl nosičů mutací u rodin s ostatní nádorovou anamnézou (41,0 % s hereditárním karcinomem prsu či ovaria a 29,4 % u nádorových multiplicit) byl dominantně způsoben klesající přítomností patogenních variant v *BRCA1*. Přesto jsme u 587 pacientek bez pozitivní nádorové anamnézy identifikovali 120 (20,4 %) nosiček. Z histologického hlediska byly nejčastější PV *BRCA1/BRCA2* u HGSC a to více než dvakrát (146/472; 30,9 %) v porovnání s LGSC (11/84; 13,1 %).

Vyšetření pacientů s hepatocelulárním karcinomem

Celkem bylo analyzováno 334 pacientů, u 7/334 (2,1 %) pacientů byly nalezeny PV v genech asociovaných se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu jater: *PMS2*, *NBN*, *FH* a *RET*. Nejčteněji nalezená byla varianta c.657del5 (c.657_661delACAAA) v *NBN*, zachycená celkem u čtyř pacientů. Celkem sedm pacientů mělo pak zárodečné patogenní varianty v genech, které kódují MRN (MRE11-RAD50-NBN) komplex, což zahrnovalo i další tři pacienty s variantami v *RAD50*. Tyto varianty měly signifikantně vyšší frekvenci u pacientů s hepatocelulárním karcinomem než u kontrol (7/334; 2,1 % vs. 7/1662; 0,4 %; $p=0,001$).

Pacienti s PV v prokázaných nádorově predispozičních genech, nebo v genech MRN komplexu se od nenosičů nelišili demografickými charakteristikami (věk, příčina cirhózy, nebo výskyt hepatocelulárního karcinomu, diabetes nebo obezita), ani charakteristikami nádorů (angioinvaze, cholangiogenní diferenciace, recidiva po transplantaci jater).

Diskuse

V rámci studie **dědičné podstaty u melanomu** jsme analyzovali 264 pacientů s tímto onemocněním, u kterých jsme našli devět pacientů (3,4 %) v genech asociovaných se vznikem melanomu a 22 pacientů (8,3 %) v genech predisponujících k dalším nádorovým syndromům. Dle předpokladů, nejvíce patogenních variant jsme našli v genu *CDKN2A* (celkem šest pacientů; 2,3 %). Čtyři z šesti nosičů patogenních variant v *CDKN2A* vyvinuli více než jeden melanom (tři pacienti) nebo jiný nádor (jeden pacient). Všech šest pacientů mělo pozitivní nádorovou anamnézu a pět z nich mělo alespoň jednoho příbuzného s melanomem. Pravděpodobnost nosičství variant v *CDKN2A* pozitivně koreluje s počtem postižených příbuzných v rodině. Zárodečné mutace ve vysoce rizikových genech predisponujících ke vzniku melanomu přinášejí zvýšené riziko i jiných nádorů [29]. Spektrum nádorových onemocnění v rodinách od šesti nosičů patogenních variant v *CDKN2A* zahrnovalo melanom, karcinom prsu, kolorekta, žaludku, pankreatu, plic a endometria, tumoru mozku a leukémie. Tři pacienti (1,1 %) s PV ve vysoce penetrantních genech pro melanom měli varianty v *POT1* a *ACD*. Varianta v *POT1* p.Pro116Leu byla již dříve popsána u pacienta se sporadickým angiosarkomem srdce [30]. V naší studii byla nosičem této varianty pacientka s mnohočetným melanomem a karcinomem prsu, avšak u ní jsme zaznamenali souběžně delecii exonů 9 a 10 v genu *CHEK2*, která patří mezi nejčastěji se vyskytující patogenní zakladatelské germinální alterace v genu *CHEK2* v ČR [31]. Mutace v *POT1* byly popisovány i v souvislosti s familiárními nemedulárními nádory štítné žlázy [32, 33]. Duplicita nádoru štítné žlázy s melanomem byla také nalezena u pacienta s variantou *POT1* c.703-1G>C. Patogenní variantu v *ACD* jsme identifikovali u jednoho pacienta s negativní nádorovou rodinnou anamnézou. Tato varianta p.Val235GlyfsTer22 zkracuje C-konec proteinu, kde se nachází domény pro interakci s proteiny důležitými pro stabilizaci shelterinového komplexu [34]. V samotném genu kódujícím *TINF2* jsme identifikovali také truncační variantu p.Arg266Ter, která v době publikování práce byla považována spíše za variantu s nízkým rizikem pro vznik melanomu. Nedávno byla publikována práce Dánských autorů, která ukazuje, že truncační varianta *TINF2* lokalizovaná v podobné pozici (Arg 265-267) jako v našem souboru (p.Arg265Ter) se vyskytovala populačně specificky a opakovaně u 6/102 (6 %) osob s mnohočetným výskytem melanomu a segregovala s pestrým spektrem nádorových onemocnění (tumory štítné žlázy, kolorekta, plic, prsu, sarkomy, hematologické malignity) u jejich příbuzných [35]. Vyšší prevalence patogenních variant v *ACD*, *TERF2IP* a *POT1* byla nalezena u 12/132 (9,1 %) evropských a australských pacientů s mnohočetným melanomem (≥ 3), kteří neměli patogenní varianty ve vysoce rizikových genech (*CDKN2A*, *CDK4*, *TERT*, *BAP1*) [36]. V rámci naší studie nebyla nalezena u pacientů zvýšená prevalence variant v genu *BAP1*. V rámci italské studie Pastorino *et al.*, našli zvýšenou prevalenci zárodečných patogenních variant u *BAP1* a *POT1*, kde identifikovali 7/273 (2,6 %) pacientů s melanomem jako nosiče PV v těchto genech [37]. Nejvyšší frekvence patogenních variant se také vyskytuje v genu *NBN* (7/264 pacientů; 2,7 %). U pěti pacientů jsme našli rekurentní slovanskou zárodečnou variantu c.657del5, která tvoří nejčastější variantu u nás [38]. V našem souboru vyvinuly dvě pacientky spolu s melanomem ještě ovariální karcinom (zárodečné varianty v *NBN* v naší populaci byly popsány i v rámci naší ovariální studie, viz kapitola 4.3) [39]. Zvýšená

prevalence melanomu u nosičů patogenní varianty *NBN* c.657del5, byla nalezena také u pacientů z Polska (frekvence srovnatelná s naší studií) a pacientů z jižního Německa (nižší frekvence oproti naší studii) [40, 41]. Varianty v *NBN* a v genu *BRCA2* se podílely na významným zvýšením rizika a jejich prevalence byla až 9× vyšší u pacientů než u kontrol. Četností patogenních variant v *BRCA1* a *CHEK2* byly u pacientů oproti kontrolám statisticky hraničně nesignifikantní ($p=0,051$). Analýza klinicko-patologických charakteristik pacientů s melanomem ukázala, že pacienti s mnohočetným výskytem melanomu, ale i přítomnost melanomu s jiným nádorem u probanda znamenala zvýšené riziko přítomnosti patogenních variant v nádorových predispozičních genech.

Ve studii týkající se pacientek s endometriálním karcinomem jsme analyzovali 527 pacientek a u 60 (11,4 %) pacientek jsme identifikovali PV genech asociovaných se vznikem nádorů endometria. V současné době je genetické riziko vzniku karcinomu endometria spjato zejména se zárodečnými variantami v genech pro LS, které v naší studii představovaly 5,1 % ze všech vyšetřených pacientek. Frekvence PV v predispozičních genech identifikovaných v naší a v dalších studiích vykazovala široké rozpětí (1,1 %-22,7 %) způsobené pravděpodobně odlišnými kritérii pro výběr pacientek napříč studiemi. Studie, kde se nacházejí nižší procenta nosiček PV v LS genech vyšetřovaly pacientky z neselektované populace, zatímco studie s nejvyššími frekvencemi nosiček PV v LS genech vybíraly pacientky s vysokým rizikem karcinomu endometria, u nichž byla přítomna pozitivní rodinná anamnéza pro Lynchův syndrom. Navzdory rozdílům ve frekvencích PV u pacientek s karcinomem endometria, riziko vývoje endometriálního karcinomu u nosiček PV v LS genech bylo obdobné v naší studii a ve studii LaDuca *et al.* (OR=22,4 pro LaDuca a OR=20,1 pro naši studii) [42]. Méně, než pětina vyšetřených pacientek s karcinomem endometria splňovala indikační kritéria pro genetické testování pro HBOC (98/527; 18,6 %), celková frekvence nosiček PV v genech *BRCA1/BRCA2* byla výrazně vyšší v naší studii oproti ostatním studiím (3,42 % vs. 0-2,2 %) [42-53]. Pouze tři pacientky z 16 (18,8 %), které splňovaly indikační kritéria pro HBOC (a ne pro LS), byly nosičkami zárodečných PV v *BRCA1* a *BRCA2*. Ve skupině pacientek, která splňovala indikační kritéria jak pro LS, tak pro HBOC, byla frekvence PV v *BRCA1* stejná jako frekvence PV pro geny LS (5/85; 6,1 %), zatímco varianty v *BRCA2* se v této skupině nenacházely. Riziko vzniku endometriálního karcinomu bylo pro nosičky PV v *BRCA1/BRCA2* nižší než pro nosičky v genech pro LS. Riziko *BRCA1* v naší studii bylo podobné tomu, které uvádí LaDuca *et al.* (OR=3,9 vs. OR=3,1), pro nosičky patogenních variant v *BRCA2* odhalila naše studie vyšší riziko než studie LaDuca *et al.* (OR=7,4 vs. OR=2,4). Naše studie tak naznačuje, že nosičky variant v genu *BRCA1* jsou spojeny se středním rizikem karcinomu endometria, zatímco riziko patogenních variant v genu *BRCA2* je vyšší. Endometriální karcinom by tedy měl být zařazen do indikačních kritérií ke genetickému testování, protože by mohl představovat další projev HBOC. Toto tvrzení je potvrzeno i studií Vietri *et al.*, která identifikovala nosičky PV v *BRCA1* a *BRCA2* u 9/21 (42,3 %) pacientek s dědičnou formou karcinomu endometria – všechny tyto pacientky splňovaly indikační kritéria pro HBOC. Mezi dalšími HBOC geny byl nejčastější výskyt

patogenních variant v genech *CHEK2* (6/527; 1,1 %) a *ATM* (5/527; 1,0 %). U genu *CHEK2* bylo nalezeno významně zvýšené riziko vzniku karcinomu endometria u pacientek nesoucích tyto patogenní varianty (OR=3,2, $p=0,04$). Varianty v genu *CHEK2* byly již dříve spojeny s predispozicí k endometriálním nádorům v naší populaci [54]. V porovnání s naší studií pozorovali Johnatty *et al.* stejnou prevalenci PV v *ATM* (1,0 %) nosičů, zatímco Cadoo *et al.* našli téměř dvojnásobnou četnost (1,9 %) [45, 49]. U genů kódujících DNA polymerázy *POLD1* a *POLE* byla prokázána společná asociace s endometriálním karcinomem. Riziko vzniku karcinomu endometria u nosičů těchto variant je v naší studii významně zvýšené (OR=10,44; $p=0,01$). Somatické varianty v *POLE* byly popsány jako marker endometriálního karcinomu [55, 56]. Věk diagnózy u nosiček PV v genech LS byl nižší než u pacientek bez těchto variant, což potvrzují nálezy z předchozích studií [43, 44, 46, 47]. Ve skupině pacientek nesoucích PV v genech pro LS se věk nástupu onemocnění lišil. U nosiček PV v genech *MLH1* a *MSH2* byl průměrný věk 48 let a pro nosičky v genu *MSH6* byl 56 let. Tento výsledek koresponduje s výsledky již dříve publikovaných prací [44, 57]. Stejně tak odpovídá výsledkům zahraniční studie i věk v době diagnózy u pacientek s PV v HBOC genech [43]. U dalších klinicko-patologických charakteristik nosiček PV odpovídají rozdíly tomu, do jaké skupiny byly pacientky zařazeny na základě indikačních kritérií. Frekvence nosiček PV byla u pacientek se dvěma nádory v osobní anamnéze 15,4 % (33/214). U 69 pacientek diagnostikovaných s karcinomem endometria a ovariálním karcinomem bylo osm nosiček s PV v HBOC genech (11,6 %) a čtyři nosičky s PV v genech LS (5,8 %, byla zahrnuta i pacientka se dvěma PV v genech *BRCA1* a *MLH1*). U 34 pacientek s karcinomem endometria a kolorekta neslo osm (23,5 %) pacientek PV v genech LS a pouze jedna pacientka PV v HBOC genu (*CHEK2*; 2,9 %). Výsledky ukazují, že přítomnost dvou nádorů v osobní anamnéze by mohla představovat silné indikační kritérium ke genetickému testování, což je v souladu s výsledky naší melanomové a ovariální studie [39, 58]. Celkem 43/60 (71,7 %) nosiček PV bylo indikováno ke genetickému testování, nicméně zbylých 17 (28,3 %) nosiček by za současných podmínek nebylo indikováno ke genetickému vyšetření. Přitom neindikované pacientky nesly PV jak v genech pro LS (*MLH1* a *MSH6*), tak v HBOC genech (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CHEK2*). Z těchto pacientek dvě vyvinuly i sekundární nádor a sedm mělo pozitivní rodinnou nádorovou anamnézu (avšak v kombinacích, které nesplňují současná indikační kritéria ke genetickému testování). Mezi hlavní nedostatky naší studie patřil její retrospektivní charakter a absence histopatologických analýz, kdy z nádorové tkáně v době diagnózy nebylo provedeno imunohistochemické vyšetření, vyšetření mikrosatelitové nestability, ani vyšetření přítomnosti somatických alterací v genech pro polymerázy, které by umožnilo lepší stratifikaci pacientek ve studii [59]. Další limitací bylo složení souboru pacientek, ve kterém více než polovinu tvořily pacientky z konsorcia CZECANCA (291/527; 55,4 %), kde se zaměřujeme zejména na analýzu nádorové predispozice u vysoce rizikových onkologických pacientů, a nemůžeme tak vyloučit zkreslení výsledků ve prospěch zvýšené prevalence nosiček patogenních variant. Z těchto důvodů jsme soubor rozdělili na základě indikačních kritérií a každou skupinu analyzovali samostatně.

Do studie pacientek se karcinomu ovaria bylo zahrnuto 1333 pacientek. Z 18 predispozičních genů pro HBOC, byly v devíti z nich identifikovány PV, které

signifikantně zvyšovaly riziko vzniku ovariálního karcinomu v naší populaci. Tyto varianty byly nalezeny u 399/1333 (29,9 %) pacientek s ovariálním karcinomem a 31/2278 (1,4 %) populačních kontrol. Mutace ve zbylých devíti genech byly buď extrémně vzácné (*CDHI*, *PTEN*, *STK11* a *TP53*), nebo se signifikantně nelišily od kontrol (*ATM*, *PALB2* a *CHEK2*), nebo nebyly zachyceny (*CDKN2A* a *NFI*). Patogenní varianty v *BRCA1/2*, *RAD51C/D* a genech LS byly asociovány s vysokým rizikem vzniku karcinomu ovaria, zatímco PV v *BRIP1* byly asociovány se středním rizikem vzniku ovariálního karcinomu v naší studii, což je shodné i s výsledky předchozích studií [60-62]. Patogenní varianty v *BRCA1* a *BRCA2* byly přítomny u 84 % všech nosiček PV a byly nejčastějšími změnami nalezenými u 17,9 % (*BRCA1*) a 7,4 % (*BRCA2*) našich pacientek. Patogenní varianty v genech *RAD51C/RAD51D/BRIP1* byly nalezeny u 5 % pacientek, tak jak bylo popsáno již dříve [63-65]. Obdobně jako u pacientů s LS převládají u našich pacientek PV v *MLH1* [66]. V porovnání s předchozími studiemi bylo u našich pacientek zvýšené riziko vzniku karcinomu ovaria u nosiček PV v *NBN* a *BARD1* [67, 68]. V naší studii nebylo nalezeno žádné signifikantní zvýšení rizika vzniku karcinomu ovaria pro nosičky PV v *ATM* a *PALB2*, což je v souladu s dřívějšími studiemi [67-69]. Zastoupení PV v *CHEK2* u pacientek s karcinomem ovaria bylo nesignifikantní v porovnání s předchozí studií, kdy jsme identifikovali mírně zvýšené riziko vzniku ovariálního karcinomu u nosiček mutací v *CHEK2* [31]. U jedné pacientky s neepiteliálním ovariálním karcinomem byla nalezena PV v *STK11*, což je charakteristický projev Peutz-Jeghersova syndromu [70]. Celkově vzato vysoká frekvence PV v predispozičních genech pro karcinom ovaria v naší studii je v souladu s výsledky z předchozích studií [63, 64, 71], což může přispět k vysokému výskytu ovariálního karcinomu v naší populaci.

Naše studie odhalila 13 (1 %) pacientek, které byly nosičkami dvou a více patogenních variant. Dostupné klinicko-patologické charakteristiky jsme analyzovali u 1320 pacientek s ovariálním karcinomem a jednou nalezenou PV v ovariálních predispozičních genech. Nejvyšší prevalence nosičů PV v *BRCA1/2* byla u pacientek diagnostikovaných s karcinomem prsu a ovaria, zatímco nosičky PV v genech *RAD51C/RAD51D/BRIP1* byly diagnostikovány pouze s karcinomem ovaria. V porovnání s Castéra *et al.*, kde byly PV v *RAD51C/RAD51D/BRIP1* dominantně nalezeny u pacientek s pozitivní rodinnou anamnézou [72], v naší populaci byly patogenní varianty v těchto genech nalezeny u 1/166 (0,9 %) pacientky s pozitivní rodinnou anamnézou a u 22/587 (3,7 %) pacientek s negativní rodinnou anamnézou. Dále jsme zaznamenali vysokou frekvenci PV predisponujících pro karcinom ovaria u starších pacientek. Prevalence pacientek starších 60 let byla 23,6 %, zatímco ve studii Harter *et al.* byla tato prevalence 18,9 %, i když četnost nosičů patogenních variant u pacientek pod 60 let byla v obou studiích srovnatelná (32,6 % pro naši studii a 33,2 % pro Harter *et al.*) [71]. Varianty v *BRCA1* byly dominantní zejména u pacientek pod 60 let, zatímco u pacientek nad 60 let byly nejčastější patogenní varianty v *BRCA2*. U pacientek nad 70 let byla frekvence patogenních variant *BRCA1/2* vyšší než 18 %, zatímco v jiných studiích byla tato frekvence nižší než 10 % [60, 73]. Vysoká frekvence patogenních variant v *BRCA1/2* u našich pacientek starších 70 let odpovídala nízké frekvenci u pacientek pod 30 let (18,1 % versus 3,6 %; $p=0,003$). Ještě zřetelněji byl tento rozdíl vidět u pacientek bez rodinné anamnézy, kde byly PV v *BRCA1/2* nalezeny u 6/45 (13,3 %) pacientek ve věku

nad 70 let, ale u žádné z 52 pacientek pod 30 let. Ačkoliv v této podskupině se vyskytovaly vzácné histologické typy ovariálního karcinomu, tak 32/49 (65,3 %) známých případů vyvinulo invazivní epiteliální ovariální karcinom. U 14,5 % pacientek s karcinomem ovaria bez nádorové rodinné anamnézy jsme našli patogenní varianty v genech *BRCA1/2*, tyto varianty by bez populačního screeningu nebyly nalezeny.

Ve studii týkající se hepatocelulárního karcinomu jsme analyzovali 334 pacientů s tímto onemocněním, kteří byli většinou indikováni k transplantaci jater. Patogenní či pravděpodobně patogenní varianty ve známých nádorově predispozičních genech souvisejících se vznikem primárního karcinomu jater byly nalezeny pouze u 7/334 (2,1 %) pacientů. Za varianty s vysokou penetrancí mohou být považovány pouze alterace v genu *FH*, které byly dříve popsány u pacientů s hepatocelulárním karcinomem [25]. Překvapivě, nejčastěji byly zastoupeny varianty v genu *NBN*, reprezentované čtyřmi nosiči rekurentní slovanské varianty c.657del5 [74], která mírně zvyšuje riziko některých nádorových onemocnění v naší populaci (viz kapitola 4.3) [75]. Nedávná práce rozsáhlého souboru pacientů z USA naznačuje, že dědičné mutace v *NBN* se podílejí na zvýšení predispozice ke vzniku pestrého spektra nádorových onemocnění bez jasnější predikce k některému z nich [76]. Gen *NBN* kóduje protein, který stabilizuje MRN komplex regulující opravu dvouřetězcových zlomů DNA. Kromě čtyř pacientů s variantami v *NBN* jsme identifikovali další tři pacienty s hepatocelulárním karcinomem, kteří nesli patogenní varianty v genu *RAD50*, jehož proteinový produkt je součástí MRN komplexu [38]. Frekvence patogenních variant v genech kódující proteiny MRN komplexu u pacientů s hepatocelulárním karcinomem (2,1 %) se významně lišila od frekvence u kontrol (0,4 %; $p=0,001$). Zatímco patogenní varianty v genech *NBN* a *RAD50* byly pozorovány i v předchozích studiích [25, 26], germinální PV ve třetím genu MRN komplexu – *MRE11* jsme nenašli žádné. Zárodečné varianty v *NBN* byli již dříve spojovány s cirhotickými pacienty s hepatocelulárním karcinomem či s chronickou hepatitidou typu B [77, 78]. Celková frekvence PV v naší studii (14,1 %) korespondovala s výsledky publikovanými ve studiích Mezina *et al.* [25], kteří identifikovali 25/117 (11,5 %) nosičů v prospektivní a 30/219 (13,7 %) nosičů v retrospektivní studii pacientů s hepatocelulárním karcinomem. V jiné studii Uson Junior *et al.* [26] našli sedm (15,9 %) patogenních variant u 44 pacientů s hepatocelulárním karcinomem. Na rozdíl od naší studie Mezina *et al.* v retrospektivní studii identifikovali devět pacientů se zárodečnými variantami v genech *BRCA1/BRCA2* (které se v naší studii nevyskytovaly) a čtyři pacienty s patogenními alteracemi v genech LS. Relativně vysoké frekvence u nosičů PV (2,1-11,4 %) ve vysoce až středně penetrantních genech pro nádorová onemocnění uvedená ve studiích Mezina *et al.* a Uson Junior *et al.* odrážejí různá vstupní kritéria a různé charakteristiky pacientů s hepatocelulárním karcinomem. Pro porovnání jsme hledali pacienty s hepatocelulárním karcinomem z české databáze konsorcia ZECANCA, obsahující indikované pacienty ke genetickému testování [79]. Ze souboru 10 480 pacientů jsme našli 20 vyšetřených pacientů s touto diagnózou, ze kterých dva byli nosiči PV v nádorově predispozičních genech (*BRCA1* a *CHEK2*). Tento výsledek naznačuje, že výsledky z retrospektivní studie [25] zahrnují pravděpodobně náhodné záchyty a stěží mohou být považovány za genetickou příčinu hepatocelulárního karcinomu. Nepodařilo se nám identifikovat PV v jiných nádorově predispozičních genech (zahrnující

BAP1, DICER1, HNF1A, MET, TERT a *VHL*) asociovaných s hepatocelulárním karcinomem v jiných studiích [80-84]. Co se týče klinicko-patologických charakteristik, pouze 5/334 pacientů v naší studii vyvinulo hepatocelulární karcinom ve tkáni bez cirhotického poškození jaterního parenchymu, což koresponduje s očekávaným vývojem onemocnění. Žádný z pacientů bez cirhózy nenesl patogenní varianty v analyzovaných genech. Vzhledem k celkově nízké frekvenci nosičů variant jsme nezaznamenali významné rozdíly v klinicko-patologických nebo nádorových charakteristikách nosičů ve srovnání s nenosiči. Analýza zárodečných variant byla limitovaná 226 geny obsaženými v panelu CZEKANCA, který obsahoval nádorově predispoziční geny, ale nepokrýval některé predispoziční geny pro cirhózu jater (například *APOB, PNPLA3*) [85, 86]. Naše výsledky tak naplňují předpoklady o malém podílu dědičných variant v nádorových predispozičních genech na vzniku hepatocelulárního karcinomu, který tak není určující diagnózou pro genetické testování.

Závěr

Předkládaná disertační práce shrnuje analýzu zárodečných variant v predispozičních genech pro melanom, karcinom endometria, ovaria a hepatocelulární karcinom u pacientů v naší populaci, které do té doby nebyly systematicky studovány.

Naše analýza genů predisponujících pro vznik melanomu prokázala, že geny s vysokým až středním rizikem, včetně genů kódujících proteiny shelterinového komplexu, by měly být zahrnuty do panelové NGS analýzy nádorových vyšetření. Výsledky ukázaly, že výběr pacientů vhodných pro tuto analýzu by neměl být omezen pouze na pacienty s více primárními melanomy nebo pacienty s pozitivní rodinnou anamnézou melanomu, ale měl by zahrnovat také pacienty s melanomem a jiným primárním nádorem a melanomové pacienty s pozitivní rodinnou nádorovou anamnézou.

Výsledky studie u pacientek s endometriálním karcinomem, které splňovaly indikační kritéria pro Lynchův syndrom, měly pětinašobně vyšší pravděpodobnost, že ponese patogenní variantu v genech asociovaných s dědičnou predispozicí k nádorům ve srovnání s pacientkami, které tato kritéria nespĺňovaly. Přítomnost patogenních variant v genech Lynchova syndromu zvyšuje riziko vzniku endometriálního karcinomu až 20× oproti jedincům bez těchto variant. Přesto by 28,3 % nosiček patogenních variant v klinicky relevantních genech nebylo nikdy, dle současných kritérií, indikováno pro genetické testování. Z tohoto důvodu navrhuje zvážit zařazení endometriálního karcinomu jako druhého primárního nádoru u pacienta, nebo jeho výskyt v rodinné anamnéze jako kritérium pro genetické testování.

Analýza pacientek s karcinomem ovaria ukázala, že téměř jedna třetina pacientek nese jasnou patogenní variantu v genu signifikantně asociovaným se vznikem ovariálního karcinomu, čímž potvrzuje oprávněnost genetického testování neselektované populace všech pacientek s ovariálními tumory bez ohledu na věk a histologický typ onemocnění. Překvapivě patogenní varianty v *BRCA1/2* nebyly spojeny se sporadickou formou OC u velmi mladých žen (pod 30 let). Kromě již známých genů predisponujících ke vzniku

karcinomu ovaria, byly geny *NBN* a *BARD1* signifikantně spojeny se středním rizikem vzniku ovariálního karcinomu. Další studie jsou však nezbytné k určení konkrétního rizika a hodnoty detekovaných patogenních variant pro prognózu a predikci terapie. Dále je nutné zkoumat patogenní varianty v genech, které neovlivnily riziko vzniku ovariálního karcinomu, na větším množství pacientů v rámci mezinárodních konsorcií.

V rámci studia hepatocelulárního karcinomu jsme došli k závěru, že nízká celková prevalence nosičů patogenních variant způsobuje, že testování zárodečných variant u pacientů s hepatocelulárním nádorem je spíše zbytečné, pokud daný pacient nesplňuje jiná kritéria pro genetické testování (přítomnost druhých nádorů či pozitivní rodinná nádorová anamnéza). Je potřeba také zvážit možné genetické testování příjemců transplantovaných jater, aby se snížila úmrtnost na zhoubné *de novo* nádory.

Výsledky této disertační práce zmapovaly nádorovou predispozici ke vzniku studovaných onemocnění u nás. A umožnily identifikaci fenotypových charakteristik vysoce rizikových pacientů, které mohou zlepšit záchyt nosičů patogenních variant, což může přispět k lepší diagnostice či prevenci těchto nádorů v České republice.

Seznam použité literatury

1. ÚZIS *Zdravotní ročenka České republiky*. 2021.
2. Bertram, J.S., *The molecular biology of cancer*. Mol Aspects Med, 2000. **21**(6): p. 167-223.
3. Kulkarni, A. and H. Carley, *Advances in the recognition and management of hereditary cancer*. Br Med Bull, 2016. **120**(1): p. 123-138.
4. Rahman, N., *Mainstreaming genetic testing of cancer predisposition genes*. Clin Med (Lond), 2014. **14**(4): p. 436-9.
5. Kleibl, Z. and V.N. Kristensen, *Women at high risk of breast cancer: Molecular characteristics, clinical presentation and management*. Breast, 2016. **28**: p. 136-44.
6. Foulkes, W.D., *Inherited susceptibility to common cancers*. N Engl J Med, 2008. **359**(20): p. 2143-53.
7. Stratton, M.R. and N. Rahman, *The emerging landscape of breast cancer susceptibility*. Nat Genet, 2008. **40**(1): p. 17-22.
8. Sung, H., et al., *Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. CA Cancer J Clin, 2021. **71**(3): p. 209-249.
9. Cancer Genome Atlas, N., *Genomic Classification of Cutaneous Melanoma*. Cell, 2015. **161**(7): p. 1681-96.
10. Curtin, J.A., et al., *Distinct sets of genetic alterations in melanoma*. N Engl J Med, 2005. **353**(20): p. 2135-47.
11. Shain, A.H. and B.C. Bastian, *From melanocytes to melanomas*. Nat Rev Cancer, 2016. **16**(6): p. 345-58.
12. Goldstein, A.M., et al., *Rare germline variants in known melanoma susceptibility genes in familial melanoma*. Hum Mol Genet, 2017. **26**(24): p. 4886-4895.
13. Law, M.H., et al., *Genome-wide meta-analysis identifies five new susceptibility loci for cutaneous malignant melanoma*. Nat Genet, 2015. **47**(9): p. 987-995.
14. Makker, V., et al., *Endometrial cancer*. Nat Rev Dis Primers, 2021. **7**(1): p. 88.

15. Cancer Genome Atlas Research, N., et al., *Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma*. *Nature*, 2013. **497**(7447): p. 67-73.
16. Spurdle, A.B., et al., *Endometrial cancer gene panels: clinical diagnostic vs research germline DNA testing*. *Mod Pathol*, 2017. **30**(8): p. 1048-1068.
17. Horackova, K., et al., *Early-Onset Ovarian Cancer <30 Years: What Do We Know about Its Genetic Predisposition?* *Int J Mol Sci*, 2023. **24**(23): p. 17020.
18. Prat, J., *New insights into ovarian cancer pathology*. *Ann Oncol*, 2012. **23 Suppl 10**: p. x111-7.
19. Fu, Z., et al., *Lifetime ovulatory years and risk of epithelial ovarian cancer: a multinational pooled analysis*. *J Natl Cancer Inst*, 2023. **115**(5): p. 539-551.
20. Matulonis, U.A., et al., *Ovarian cancer*. *Nat Rev Dis Primers*, 2016. **2**(1): p. 16061.
21. Pavanello, M., et al., *Rare Germline Genetic Variants and the Risks of Epithelial Ovarian Cancer*. *Cancers (Basel)*, 2020. **12**(10).
22. Llovet, J.M., et al., *Hepatocellular carcinoma*. *Nat Rev Dis Primers*, 2021. **7**(1): p. 6.
23. Marrero, J.A., et al., *Diagnosis, Staging, and Management of Hepatocellular Carcinoma: 2018 Practice Guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases*. *Hepatology*, 2018. **68**(2): p. 723-750.
24. Ozturk, M., *Genetic aspects of hepatocellular carcinogenesis*. *Semin Liver Dis*, 1999. **19**(3): p. 235-42.
25. Mezina, A., et al., *Multigene Panel Testing in Individuals With Hepatocellular Carcinoma Identifies Pathogenic Germline Variants*. *JCO Precis Oncol*, 2021. **5**.
26. Uson Junior, P.L., et al., *Germline Cancer Susceptibility Gene Testing in Unselected Patients with Hepatobiliary Cancers: A Multi-Center Prospective Study*. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2022. **15**(2): p. 121-128.
27. Soukupova, J., et al., *Validation of CZE CANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) for targeted NGS-based analysis of hereditary cancer syndromes*. *PLoS One*, 2018. **13**(4): p. e0195761.
28. Walker, L.C., et al., *Comprehensive Assessment of BARD1 Messenger Ribonucleic Acid Splicing With Implications for Variant Classification*. *Front Genet*, 2019. **10**: p. 1139.
29. Read, J., K.A. Wadt, and N.K. Hayward, *Melanoma genetics*. *J Med Genet*, 2016. **53**(1): p. 1-14.
30. Calvete, O., et al., *The wide spectrum of POT1 gene variants correlates with multiple cancer types*. *Eur J Hum Genet*, 2017. **25**(11): p. 1278-1281.
31. Kleiblova, P., et al., *Identification of deleterious germline CHEK2 mutations and their association with breast and ovarian cancer*. *Int J Cancer*, 2019. **145**(7): p. 1782-1797.
32. Andreotti, V., et al., *Germline POT1 Variants: A Critical Perspective on POT1 Tumor Predisposition Syndrome*. *Genes (Basel)*, 2024. **15**(1).
33. Srivastava, A., et al., *A Germline Mutation in the POT1 Gene Is a Candidate for Familial Non-Medullary Thyroid Cancer*. *Cancers (Basel)*, 2020. **12**(6).
34. Nelson, N.D., et al., *The C-Terminal Extension Unique to the Long Isoform of the Shelterin Component TIN2 Enhances Its Interaction with TRF2 in a Phosphorylation- and Dyskeratosis Congenita Cluster-Dependent Fashion*. *Mol Cell Biol*, 2018. **38**(12).
35. Jensen, M.R., et al., *TINF2 is a major susceptibility gene in Danish patients with multiple primary melanoma*. *HGG Adv*, 2023. **4**(4): p. 100225.
36. Aoude, L.G., et al., *Nonsense mutations in the shelterin complex genes ACD and TERF2IP in familial melanoma*. *J Natl Cancer Inst*, 2015. **107**(2).

37. Pastorino, L., et al., *Insights into Genetic Susceptibility to Melanoma by Gene Panel Testing: Potential Pathogenic Variants in ACD, ATM, BAP1, and POT1*. *Cancers (Basel)*, 2020. **12**(4).
38. Otahalova, B., et al., *Importance of Germline and Somatic Alterations in Human MRE11, RAD50, and NBN Genes Coding for MRN Complex*. *Int J Mol Sci*, 2023. **24**(6).
39. Lhotova, K., et al., *Multigene Panel Germline Testing of 1333 Czech Patients with Ovarian Cancer*. *Cancers (Basel)*, 2020. **12**(4): p. 956.
40. Debniak, T., et al., *Germline 657del5 mutation in the NBS1 gene in patients with malignant melanoma of the skin*. *Melanoma Res*, 2003. **13**(4): p. 365-70.
41. Meyer, P., et al., *Molecular genetic analysis of NBS1 in German melanoma patients*. *Melanoma Res*, 2007. **17**(2): p. 109-16.
42. LaDuca, H., et al., *A clinical guide to hereditary cancer panel testing: evaluation of gene-specific cancer associations and sensitivity of genetic testing criteria in a cohort of 165,000 high-risk patients*. *Genet Med*, 2020. **22**(2): p. 407-415.
43. Levine, M.D., et al., *Up-Front Multigene Panel Testing for Cancer Susceptibility in Patients With Newly Diagnosed Endometrial Cancer: A Multicenter Prospective Study*. *JCO Precis Oncol*, 2021. **5**: p. 1588-1602.
44. Tian, W., et al., *Screening for hereditary cancers in patients with endometrial cancer reveals a high frequency of germline mutations in cancer predisposition genes*. *Int J Cancer*, 2019. **145**(5): p. 1290-1298.
45. Cadoo, K.A., et al., *Understanding inherited risk in unselected newly diagnosed patients with endometrial cancer*. *JCO Precis Oncol*, 2019. **3**.
46. Long, B., et al., *Cancer susceptibility gene mutations in type I and II endometrial cancer*. *Gynecol Oncol*, 2019. **152**(1): p. 20-25.
47. Ring, K.L., et al., *Germline multi-gene hereditary cancer panel testing in an unselected endometrial cancer cohort*. *Mod Pathol*, 2016. **29**(11): p. 1381-1389.
48. Samadder, N.J., et al., *Comparison of Universal Genetic Testing vs Guideline-Directed Targeted Testing for Patients With Hereditary Cancer Syndrome*. *JAMA Oncol*, 2021. **7**(2): p. 230-237.
49. Johnatty, S.E., et al., *Case-case analysis addressing ascertainment bias for multigene panel testing implicates BRCA1 and PALB2 in endometrial cancer*. *Hum Mutat*, 2021. **42**(10): p. 1265-1278.
50. Karpel, H.C., et al., *Utility of germline multi-gene panel testing in patients with endometrial cancer*. *Gynecol Oncol*, 2022. **165**(3): p. 546-551.
51. Susswein, L.R., et al., *Pathogenic and likely pathogenic variant prevalence among the first 10,000 patients referred for next-generation cancer panel testing*. *Genet Med*, 2016. **18**(8): p. 823-32.
52. Heald, B., et al., *Unexpected actionable genetic variants revealed by multigene panel testing of patients with uterine cancer*. *Gynecol Oncol*, 2022. **166**(2): p. 344-350.
53. Huang, K.L., et al., *Pathogenic Germline Variants in 10,389 Adult Cancers*. *Cell*, 2018. **173**(2): p. 355-370 e14.
54. Stolarova, L., et al., *CHEK2 Germline Variants in Cancer Predisposition: Stalemate Rather than Checkmate*. *Cells*, 2020. **9**(12).
55. Yen, T.T., et al., *Molecular Classification and Emerging Targeted Therapy in Endometrial Cancer*. *Int J Gynecol Pathol*, 2020. **39**(1): p. 26-35.
56. Leon-Castillo, A., et al., *Interpretation of somatic POLE mutations in endometrial carcinoma*. *J Pathol*, 2020. **250**(3): p. 323-335.

57. Ryan, N.A.J., et al., *Association of Mismatch Repair Mutation With Age at Cancer Onset in Lynch Syndrome: Implications for Stratified Surveillance Strategies*. JAMA Oncol, 2017. **3**(12): p. 1702-1706.
58. Stolarova, L., et al., *Identification of Germline Mutations in Melanoma Patients with Early Onset, Double Primary Tumors, or Family Cancer History by NGS Analysis of 217 Genes*. Biomedicines, 2020. **8**(10): p. 404.
59. Gordhandas, S., et al., *Comprehensive analysis of germline drivers in endometrial cancer*. J Natl Cancer Inst, 2023. **115**(5): p. 560-569.
60. Kuchenbaecker, K.B., et al., *Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers*. JAMA, 2017. **317**(23): p. 2402-2416.
61. Weber-Lassalle, N., et al., *BRIP1 loss-of-function mutations confer high risk for familial ovarian cancer, but not familial breast cancer*. Breast Cancer Res, 2018. **20**(1): p. 7.
62. Lilyquist, J., et al., *Frequency of mutations in a large series of clinically ascertained ovarian cancer cases tested on multi-gene panels compared to reference controls*. Gynecol Oncol, 2017. **147**(2): p. 375-380.
63. Koczkowska, M., et al. *Spectrum and Prevalence of Pathogenic Variants in Ovarian Cancer Susceptibility Genes in a Group of 333 Patients*. Cancers, 2018. **10**, DOI: 10.3390/cancers10110442.
64. Krivokuca, A., et al., *Germline mutations in cancer susceptibility genes in high grade serous ovarian cancer in Serbia*. J Hum Genet, 2019. **64**(4): p. 281-290.
65. Bonache, S., et al., *Multigene panel testing beyond BRCA1/2 in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings*. J Cancer Res Clin Oncol, 2018. **144**(12): p. 2495-2513.
66. Dominguez-Valentin, M., et al., *Cancer risks by gene, age, and gender in 6350 carriers of pathogenic mismatch repair variants: findings from the Prospective Lynch Syndrome Database*. Genet Med, 2020. **22**(1): p. 15-25.
67. Lu, H.M., et al., *Association of Breast and Ovarian Cancers With Predisposition Genes Identified by Large-Scale Sequencing*. JAMA Oncol, 2019. **5**(1): p. 51-57.
68. Ramus, S.J., et al., *Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN Genes in Women With Ovarian Cancer*. J Natl Cancer Inst, 2015. **107**(11): p. djv214.
69. Kurian, A.W., et al., *Genetic Testing and Results in a Population-Based Cohort of Breast Cancer Patients and Ovarian Cancer Patients*. J Clin Oncol, 2019. **37**(15): p. 1305-1315.
70. Loveday, C., et al., *Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer*. Nat Genet, 2011. **43**(9): p. 879-882.
71. Harter, P., et al., *Prevalence of deleterious germline variants in risk genes including BRCA1/2 in consecutive ovarian cancer patients (AGO-TR-1)*. PLoS One, 2017. **12**(10): p. e0186043.
72. Castéra, L., et al., *Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes*. Eur J Hum Genet, 2014. **22**(11): p. 1305-13.
73. Plaskocinska, I., et al., *New paradigms for BRCA1/BRCA2 testing in women with ovarian cancer: results of the Genetic Testing in Epithelial Ovarian Cancer (GTEOC) study*. J Med Genet, 2016. **53**(10): p. 655-61.
74. Varon, R., et al., *Clinical ascertainment of Nijmegen breakage syndrome (NBS) and prevalence of the major mutation, 657del5, in three Slav populations*. Eur J Hum Genet, 2000. **8**(11): p. 900-2.

75. Wieme, G., et al., *Prevalence of Germline Pathogenic Variants in Cancer Predisposing Genes in Czech and Belgian Pancreatic Cancer Patients*. *Cancers (Basel)*, 2021. **13**(17): p. 4430.
76. Belhadj, S., et al., *NBN Pathogenic Germline Variants are Associated with Pan-Cancer Susceptibility and In Vitro DNA Damage Response Defects*. *Clin Cancer Res*, 2023. **29**(2): p. 422-431.
77. Rybicka, M., et al., *Liver Cirrhosis in Chronic Hepatitis B Patients Is Associated with Genetic Variations in DNA Repair Pathway Genes*. *Cancers (Basel)*, 2020. **12**(11).
78. Zhen, Y., et al., *A non-synonymous polymorphism in NBS1 is associated with progression from chronic hepatitis B virus infection to hepatocellular carcinoma in a Chinese population*. *Onco Targets Ther*, 2018. **11**: p. 563-569.
79. Soukupova, J., et al., *[CZECANCA: CZEch Cancer paNel for Clinical Application - Design and Optimization of the Targeted Sequencing Panel for the Identification of Cancer Susceptibility in High-risk Individuals from the Czech Republic]*. *Klin Onkol*, 2016. **29 Suppl 1**: p. S46-54.
80. Caruso, S., et al., *Germline and somatic DICER1 mutations in familial and sporadic liver tumors*. *J Hepatol*, 2017. **66**(4): p. 734-742.
81. Chau, C., et al., *Families with BAP1-Tumor Predisposition Syndrome in The Netherlands: Path to Identification and a Proposal for Genetic Screening Guidelines*. *Cancers (Basel)*, 2019. **11**(8): p. 1114.
82. Fu, J., et al., *Primary hepatocellular adenoma due to biallelic HNF1A mutations and its co-occurrence with MODY 3: case-report and review of the literature*. *Endocrine*, 2020. **67**(3): p. 544-551.
83. Tovar, E.A. and C.R. Graveel, *MET in human cancer: germline and somatic mutations*. *Ann Transl Med*, 2017. **5**(10): p. 205.
84. Kuhlman, J.J., et al., *Germline VHL Mutation Discovered in Association with EGFR-Positive Lung Cancer and Metachronous Hepatocellular Carcinoma: A Case Report*. *Case Rep Oncol*, 2021. **14**(3): p. 1392-1398.
85. Pelusi, S., et al., *Rare Pathogenic Variants Predispose to Hepatocellular Carcinoma in Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. *Sci Rep*, 2019. **9**(1): p. 3682.
86. Singal, A.G., et al., *The effect of PNPLA3 on fibrosis progression and development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis*. *Am J Gastroenterol*, 2014. **109**(3): p. 325-34.

Seznam prací, které jsou podkladem dizertační práce

1. Publikace in extenso, které jsou podkladem disertace

a) Publikace s IF

Stolarova L, Jelinkova S, Storchova R, Machackova E, Zemankova P, Vocka M, Kodet O, Kral J, Cerna M, Volkova Z, Janatova M, Soukupova J, Stranecky V, Dunder P, Foretova L, Macurek L, Kleiblova P, Kleibl Z. **Identification of Germline Mutations in Melanoma Patients with Early Onset, Double Primary Tumors, or Family Cancer History by NGS Analysis of 217 Genes**. *Biomedicines*. 2020 Oct 9;8(10):404. doi: 10.3390/biomedicines8100404. PMID: 33050356; PMCID: PMC7601281. (IF=4,7)

Kral J, Jelinkova S, Zemankova P, Vocka M, Borecka M, Cerna L, Cerna M, Dostalek L, Duskova P, Foretova L, Havranek O, Horackova K, Hovhannisyanyan M, Chvojka S, Kalousova M, Kosarova M, Koudova M, Krutilkova V, Machackova E, Nehasil P, Novotny J, Otahalova B, Puchmajerova A, Safarikova M, Slama J, Stranecky V, Subrt I, Tavandzis S, Zikan M, Zima T, Soukupova J, Kleiblova P, Kleibl Z, Janatova M. **Germline multigene panel testing of patients with endometrial cancer**. *Oncol Lett*. 2023 Apr 12;25(6):216. doi: 10.3892/ol.2023.13802. PMID: 37153042; PMCID: PMC10157349. (IF=2,9)

Lhotova K, Stolarova L, Zemankova P, Vocka M, Janatova M, Borecka M, Cerna M, Jelinkova S, Kral J, Volkova Z, Urbanova M, Kleiblova P, Machackova E, Foretova L, Hazova J, Vasickova P, Lhota F, Koudova M, Cerna L, Tavandzis S, Indrakova J, Hruskova L, Kosarova M, Vrtel R, Stranecky V, Kmoch S, Zikan M, Macurek L, Kleibl Z, Soukupova J. **Multigene Panel Germline Testing of 1333 Czech Patients with Ovarian Cancer**. *Cancers (Basel)*. 2020 Apr 13;12(4):956. doi: 10.3390/cancers12040956. PMID: 32295079; PMCID: PMC7226062. (IF=5,2)

Horackova K, Frankova S, Zemankova P, Nehasil P, Cerna M, Neroldova M, Otahalova B, Kral J, Hovhannisyanyan M, Stranecky V, Zima T, Safarikova M, Kalousova M, Consortium C, Novotny J, Sperl J, Borecka M, Jelinkova S, Vocka M, Janatova M, Kleiblova P, Kleibl Z, Jirsa M, Soukupova J. **Low Frequency of Cancer-Predisposition Gene Mutations in Liver Transplant Candidates with Hepatocellular Carcinoma**. *Cancers (Basel)*. 2022 Dec 29;15(1):201. doi: 10.3390/cancers15010201. PMID: 36612198; PMCID: PMC9818325. (IF=5,2)