

Abstrakt

Nádorová onemocnění jsou jakožto druhá nejčastější příčina úmrtí globálním zdravotním problémem (www.uzis.cz). Vzniká tak urgentní potřeba výzkumu, aby díky efektivnější a výkonnější predikci rizika a více personalizovaným přístupem k pacientům, byla redukována incidence a asociované léčebné finanční náklady. Nosiči klinicky významných germinálních mutací v genech predisponujících k hereditárním nádorovým syndromům mají vysoké riziko nádorového onemocnění. Identifikace takovéto mutace může ovlivnit prognózu i léčbu probanda, ale také pomoci s prevencí rodinných příslušníků a jejich zařazení do vysoce rizikové skupiny.

Tato studie je zaměřena na dosud málo popsané genetické faktory predisponující k duktálnímu adenokarcinomu pankreatu (PDAC) v české populaci. V roce 2017 byla incidence PDAC v ČR 21 případů na 100 tisíc obyvatel a PDAC byl čtvrtý nejčastější důvod smrti mezi onkologickými pacienty (www.svod.cz).

Za použití široké škály metod včetně HRM analýzy (High Resolution Melting), Sanger sekvenování celého genu a sekvenování nové generace (NGS, Next Generation Sequencing) s pomocí CZEKANCA panelu vyrobeného v naší laboratoři jsme analyzovali několik skupin neselektovaných PDAC pacientů a nenádorových kontrol. Byla potvrzena role *PALB2* jako PDAC predispozičního genu v české populaci s frekvencí trunkačních mutací u neselektovaných PDAC pacientů 1,97% (3/152) a 0,08% (1/1.226) v kontrolní skupině [OR=24,66 (odds ratio); 95% CI 2,55-238,64; p=0,005]. Dále byla nalezena vyšší frekvence rekurentní slovanské mutace c.657_661del v genu *NBN* u neselektovaných PDAC pacientů (5/241; 2,08%) oproti 0,22% (2/915) u kontrol, která tedy představuje další alelu zvyšující riziko vzniku PDAC (OR=9,65; 95% CI 1,9-50,2; p=0,006). V další části práce bylo vyšetřeno 113 neselektovaných PDAC pacientů pomocí NGS sekvenování. Byla potvrzena přítomnost mutací známých PDAC/HBOC (hereditary breast and/or ovarian cancer) predispozičních genů u 15 pacientů: *BRCA1* (3x), *BRCA2* (5x), *PALB2* (1x), *ATM* (1x), *NBN* (1x), *CHEK2* (3x) a *BRIP1* (1x). Jako nejslibnější nový kandidátní gen se jeví *LIG4* se stejnou frekvencí patogenních variant jako *BRCA1* a *CHEK2* (3x). V unikátní skupině dvaceti pacientů přeživších více než pět let po PDAC diagnóze jsme našli pět mutací u čtyř pacientů (4/20; 20%) – *ATM* (1x); *MLH1* (1x); *RAD51D* (1x) a *CHEK2* (2x).

Soubor *PALB2* missense variant nejasného významu byl funkčně charakterizován *in vitro* na modelu lidské U2 OS buněčné linie. Analyzované varianty byly nejprve zavedeny do buněčného genomu pomocí CRISPR technologie. Vzhledem k tomu, že *PALB2* protein má důležitou funkci během oprav DNA zlomů, byla aktivita homologní rekombinace testována u selektovaných klonů. Výsledky

neukázaly žádný signifikantní rozdíl aktivity homologní rekombinace mezi kontrolou s původní sekvencí a heterozygotními klony c.82_83delinsGC a c.3494C>T.