

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

**Identifikace dědičných faktorů ovlivňujících vznik karcinomu pankreatu
a dalších solidních tumorů**

**Identification of hereditary factors influencing the formation of a pancreatic
carcinoma and other solid tumours**

Mgr. Jan Král

2023

Doktorské studijní programy v biomedicině

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

Školitel: RNDr. Markéta Janatová, 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

Obsah.....	3
Abstrakt	4
Abstract.....	5
Úvod	6
Hypotézy a cíle práce	8
Materiál a metodika.....	9
Výsledky.....	10
Vyšetření pacientů s karcinomem pankreatu.....	10
Vyšetření pacientek s karcinomem endometria.....	11
Diskuze	13
Karcinom pankreatu	13
Karcinom endometria	17
Závěry.....	21
Karcinom pankreatu	21
Karcinom endometria	21
Použitá literatura.....	22

Abstrakt

Karcinom pankreatu (PDAC) patří mezi nádorová onemocnění s jednou z nejhorších prognóz. Karcinom endometria (EC) je nejčastějším gynekologickým nádorovým onemocněním. Genetické pozadí u nádorových onemocnění je vysoce heterogenní a liší se mezi populacemi.

Vyšetřili jsme DNA 226 pacientů s PDAC a 527 pacientek s EC pomocí panelového sekvenování nové generace. Cílové geny jsme rozdělili na hlavní predispoziční geny (11 pro PDAC, 19 pro EC) a ostatní kandidátní geny. Pacientky s EC byly rozděleny do skupin na základě splnění indikačních kritérií k zárodečnému genetickému testování. Použili jsme dvě skupiny populačně specifických kontrol (kontroly bez nádorového onemocnění a populační kontroly).

Zárodečné patogenní varianty (PV) v hlavních predispozičních genech byly nalezeny u 18 (8,0 %) pacientů s PDAC. Nejčastěji mutovaným genem byl BRCA2 (50 % nosičů). Signifikantně zvýšené riziko vzniku PDAC bylo u nosičů mutací v genech BRCA1 (OR = 10,4; $p = 0,04$), BRCA2 (OR = 6,4; $p = 0,0009$) a CHEK2 (OR = 17,5; $p = 0,003$). Přítomnost mutace v genech podílejících se na procesech homologní rekombinace byla spojena s lepší dobou přežití pacientů. U pacientek s EC byly zárodečné PV v hlavních predispozičních genech nalezeny v 60 (11,4 %) případech. Nosičky mutací v genech Lynchova syndromu (LS) měly významně zvýšené riziko EC (OR = 22,4; $p = 1,8 \times 10^{-17}$). Další geny asociované se zvýšeným rizikem vzniku EC byly BRCA1 (OR = 3,9; $p = 0,001$), BRCA2 (OR = 7,4; $p = 0,002$) a CHEK2 (OR = 3,2; $p = 0,04$). Nosičky mutací v LS genech měly nižší věk diagnózy EC než pacientky bez mutace (51,0 vs. 61,4 let, $p = 0,01$). 28,3 % nosiček PV v klinicky relevantních genech nebylo zachyceno současnými indikačními kritérii ke genetickému testování.

Výsledky této práce ukazují význam genetického testování pacientů s nádorovými onemocněními.

Abstract

Pancreatic adenocarcinoma (PDAC) has one of the worst prognoses out of all cancers worldwide. Endometrial carcinoma (EC) is the most common gynecological cancer. Genetic background of tumors is highly heterogenous and differs among populations.

We have analyzed DNA of 226 PDAC patients and 527 EC patients using panel next-generation sequencing. Targeted genes were divided into main predisposition genes (11 for PDAC, 19 for EC) and other candidate genes. EC patients were categorized based on meeting the indication criteria for germline genetic testing. Two sets of population-matched controls were used (controls with negative cancer history, and general population controls).

Germline pathogenic variants (PV) in main predisposition genes were identified in 18 (8.0%) PDAC patients. The most mutated gene was BRCA2 (50% of carriers). PDAC risk was significantly elevated in carriers of PV in BRCA1 (OR = 10.4, $p = 0.04$), BRCA2 (OR = 6.4, $p = 0.0009$), and CHEK2 (OR = 17.5, $p = 0.003$). Germline mutations in genes participating in homologous recombination processes were associated with improved overall survival of patients. Among EC patients there were 60 (11.4%) carriers of PV in main predisposition genes. Carriers of PV in Lynch syndrome (LS) genes had markedly elevated risk of developing EC (OR = 22.4, $p = 1.8 \times 10^{-17}$). Other genes associated with higher EC risk were BRCA1 (OR = 3.9, $p = 0.001$), BRCA2 (OR = 7.4, $p = 0.002$), and CHEK2 (OR = 3.2, $p = 0.04$). Carriers of LS gene mutations had lower age of EC onset than non-carriers (51.0 vs. 61.4 years, $p = 0.01$). 28.3 % of PV carriers in clinically relevant genes did not meet any indication criteria for germline genetic testing.

The results of this thesis emphasize the importance of genetic testing of patients suffering from oncological disease.

Úvod

Maligní nádory jsou genetická onemocnění charakterizovaná zejména svým nekontrolovatelným růstem bez ohledu na výstavbový plán těla. Aby buňka organismu prošla přeměnou v maligní nádorovou buňku, neboli aby prošla maligní transformací, musí u ní dojít k selhání kontrolních mechanismů růstu a přežívání. Pro maligní transformaci jsou klíčová poškození funkce dvou hlavních skupin genů: protoonkogenů, které kódují proteiny pozitivně ovlivňující buněčný růst a přežívání, a tumor supresorových genů, které působí proti účinku protoonkogenů, limitují tedy buněčné dělení, indukují apoptózu, případně rozpoznávají poškození DNA a opravují je (Novotny et al., 2019).

Nádorová onemocnění vznikají postupnou akumulací somatických variant v genomu buňky. Přibližně 90-95 % všech nádorových onemocnění je podmíněno kauzálními mutacemi, které vznikly během života jedince. V takovém případě hovoříme o sporadických nádorových onemocněních. Nicméně, ve zbylých 5-10 % případů je vznik nádorového onemocnění podmíněn zděděnou, zárodečnou mutací. Takovéto zárodečné mutace mohou výrazně predisponovat jejich nosiče ke vzniku nádorového onemocnění a mohou být příčinou dědičných nádorových syndromů. Charakteristickým znakem dědičných nádorových syndromů je častý výskyt určitého typu nádorového onemocnění v rodině, brzký výskyt onemocnění u nosiče mutace a typicky i vznik vícečetných primárních malignit u nosiče (Foretova *et al.*, 2022).

Nejčastější formou nádorového onemocnění pankreatu jsou karcinomy, tedy nádory pocházející z exokrinního parenchymu. Takovéto tumory tvoří 95 % všech nádorových onemocnění pankreatu, z toho 80 % představuje duktální adenokarcinom pankreatu (PDAC). Karcinom pankreatu je čtvrtou nejčastější příčinou úmrtí na nádorová onemocnění ve vyspělých zemích a je očekáváno, že se do deseti let stane druhou nejčastější (Rahib *et al.*, 2014). PDAC představuje nejčastější formu karcinomu pankreatu. Incidence PDAC v České republice setrvale narůstá, v roce 2020 tvořila 2504 případů a mortalita ve stejném roce činila 2327 pacientů. Ke vzniku PDAC přispívají jak genetické, tak negenetické faktory. Mezi hlavní negenetické faktory patří věk. Naprostá většina případů PDAC nastává po 55. roku života. Mezi genetické faktory predisponující k PDAC patří jednoznačně rodinný výskyt tohoto karcinomu. Rodinná forma PDAC je definována jako alespoň dva přímí příbuzní s onemocněním (Klein, 2012). Jedinec, v jehož přímé rodině se vyskytují tři případy PDAC, má kumulativní riziko tohoto onemocnění 40 %. Pro dva přímé příbuzné je toto riziko 10 %

a pro jednoho 6 % (Klein *et al.*, 2004). Sporadická složka PDAC je udávána na 90 % všech případů, přičemž zbylých 10 % tvoří familiární případy (Turati *et al.*, 2013). Z těchto familiárních případů je přibližně u 20 % diagnostikován některý známý hereditární syndrom (kapitola 1.4.3) (Novotny *et al.*, 2019). Mezi známé predispoziční geny patří *STK11*, *CDKN2A*, *BRCA2*, *SPINK1* a *PRSSI*.

Karcinom endometria (EC) je zhoubným nádorovým onemocněním vnitřní epitelové výstelky dělohy. EC je nejčastějším gynekologickým nádorovým onemocněním celosvětově a čtvrtým nejčastějším nádorem u žen. Incidence EC v České republice za rok 2020 činila 1893 případů a mortalita 345 případů (18% mortalita). Včasná diagnóza EC se promítá do relativně dobré prognózy onemocnění a úspěšné léčby. Faktory ovlivňující riziko vzniku EC zahrnují věk ≥ 55 let, raný věk menarche, pozdní věk menopauzy nebo nízká parita. Nádory endometria byly historicky děleny dle histopatologických charakteristik na dva typy (I a II). Tradiční rozdělení EC na typ I a typ II bylo v poslední době přehodnocováno díky pokroku v molekulárních a sekvenačních technologiích a byly tak definovány různé molekulární typy, například copy number high, copy number low, nádory s mikrosatelitovou nestabilitou a *POLE*-ultramutované. Naprostá většina případů EC je sporadického původu, nicméně 3-5 % případů tvoří dědičné formy EC, nejčastěji asociované s Lynchovým syndromem (LS) (Spurdle *et al.*, 2017).

Hypotézy a cíle práce

Genetické pozadí u nádorových onemocnění je vysoce heterogenní. Navíc, podíl genetické predispozice se u různých dědičných nádorových onemocnění liší a ve většině případů s kumulací nádorových onemocnění v rodině nebyla dosud dědičná komponenta objasněna.

Cílem práce bylo určení podílu genetické predispozice u pacientek/tů s karcinomem pankreatu a karcinomem endometria v České republice pomocí několika dílčích úkolů:

1. Stanovit frekvenci zárodečných patogenních variant ve známých nádorových predispozičních genech a v kandidátních genech, u nichž není asociace se zvýšeným rizikem vzniku daného karcinomu dosud popsána.
2. Určit rizika vzniku onemocnění spojená se zárodečnými patogenními variantami v jednotlivých genech.
3. Srovnat klinicko-patologické charakteristiky u nosičů zárodečných patogenních variant a pacientů bez mutací.
4. U pacientek s karcinomem endometria zhodnotit vliv indikačních kritérií ke genetickému testování na úspěšnost nalezení nosičů patogenních variant.

Materiál a metodika

Do projektu bylo zařazeno 226 pacientů s PDAC a 527 pacientek s EC. Všichni pacienti poskytli informovaný souhlas s účastí na studii. Studie byla schválena Etickou komisí VFN. Všichni pacienti byli Češi kavkazské populace.

Analýza vzorků genomové DNA izolované z periferní krve byla prováděna panelovým sekvenováním nové generace. Byl použit panel CZECANCA v1.2.2, navržený v rámci Laboratoře onkogenetiky, který cílí na 226 známých a kandidátních nádorových predispozičních genů. Většina proteinových produktů cílových genů se podílí na DNA reparačních procesech, nebo jsou součástí proliferačních a kontrolních signálních kaskád.

Pro přípravu knihovny před nabohacením cílové sekvence byl použit komerční kit KAPA HyperPlus (Roche). Pro hybridizaci s panelem a následné omývání byly použity kity KAPA HyperCapture Reagent a KAPA HyperCapture Bead (Roche). Cílové geny jsme rozdělili na hlavní predispoziční geny (11 pro PDAC, 19 pro EC) a ostatní kandidátní geny.

Nalezené patogenní varianty byly porovnávány s dvěma soubory populačně specifických kontrol (777 nenádorových kontrol, 1662 běžných populačních kontrol).

Frekvence zárodečných patogenních variant u pacientů a kontrol byla porovnávána pomocí Fisherova přesného testu nebo Pearsonova χ^2 testu. Rozdíl ve věku diagnóz u pacientů s EC byl spočítán pomocí jednofaktorové ANOVA analýzy následované Tukey-Kramerovým testem. Statistické testy byly oboustranné a p hodnoty $<0,05$ byly považovány za signifikantní. Analýza přežití byla provedena Kaplan-Meierovou metodou.

Přítomnost patogenní genetické varianty zjištěné pomocí NGS byla potvrzena Sangerovým sekvenováním, jednalo-li se o záměny jednoho nukleotidu/malé delece a inserce. Přítomnost CNV byla potvrzována pomocí metody MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification).

Výsledky

Vyšetření pacientů s karcinomem pankreatu

Celkem byla vyšetřena genetická predispozice u 226 pacientů s PDAC. Patogenní varianty (PV) byly nalezeny v pěti genech (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *TP53*) z celkem 11 hlavních PDAC predispozičních genů. Polovina všech PV v hlavních predispozičních genech byla nalezena v genu *BRCA2* (N = 9). Dále byly PV nalezeny v genech *ATM* (N = 3) a *BRCA1* (N = 3), následované *PALB2* (N = 2) a *TP53* (N = 1). Srovnáním frekvencí PV u pacientů a v kontrolním souboru jsme spočítali rizika vzniku PDAC pro jednotlivé geny. Statisticky signifikantně zvýšené riziko představují PV v genu *BRCA1* (OR = 10,4; p = 0,04) a v genu *BRCA2* (OR = 6,4; p = 0,0009). Mezi ostatními kandidátními geny bylo identifikováno 18 PV u celkem 16/226 (7,1 %) nosičů. Frekvence nosičů PV v těchto genech byla téměř dvakrát vyšší než u kontrolního souboru (30/777; 3,9 %; p = 0,02). Nejvíce PV bylo nalezeno v genu *CHEK2* (5/18; 27,8 %), u něhož jako jediného samostatného genu ze skupiny kandidátních genů vyšlo signifikantně zvýšené riziko vzniku PDAC (OR = 17,5; p = 0,003). U dvou pacientů jsme našli více PV zároveň. Jeden pacient byl nosičem PV v genech *BRCA2* a *ERCC4*, druhý nosičem PV v genech *CHEK2*, *ERCC4* a *FANCG*. V kontrolním souboru nebyli žádní nosiči více PV.

U pacientů byly hodnoceny klinicko-patologické charakteristiky onemocnění. Zatímco u pacientů pouze s PDAC byla zachycena frekvence nosičů PV v hlavních PDAC predispozičních genech 5,7 % (12/209), u pacientů s PDAC a dalším nádorovým onemocněním byla frekvence nosičů PV v těchto genech 6x vyšší (6/17; 35,3 %; p = 0,001).

Frekvence nosičů PV v hlavních predispozičních genech byla 4x vyšší u pacientů s pozitivní rodinnou nádorovou anamnézou (13/85; 15,3 %) ve srovnání s frekvencí PV u pacientů bez nádorových onemocnění v rodině (5/140; 3,6 %; p = 0,004). U nosičů PV s pozitivní rodinnou anamnézou byly nalezeny PV v genech *BRCA2* (7x), *BRCA1* (3x), *ATM* (2x) a *TP53* (1x).

Nosiči PV v genech homologní rekombinace měli významně lepší střední dobou přežití (mOS; 21,4 měsíce) než pacienti bez mutace (12,4 měsíce, p = 0,001) a nosiči PV v ostatních genech (4,7 měsíce, p = 0,017).

Vyšetření pacientek s karcinomem endometria

Celkem byla vyšetřena genetická predispozice u 527 pacientek s EC z deseti center. Zárodečné PV byly častější mezi pacientkami s EC (118/527; 22,4 %) než u populačních kontrol (290/1662; 17,4 %; $p = 0,01$). Pacientky byly rozděleny na základě indikačních kritérií ke genetickému testování. Celkem 294 (47,2 %) pacientek by bylo indikováno ke genetickému vyšetření a zbylých 278 (52,8 %) pacientek by ke genetickému vyšetření indikováno nebylo. V rámci indikovaných pacientek splňovalo indikační kritéria pouze pro LS 151 (28,7 %) pacientek, pouze pro HBOC 16 (3,0 %) pacientek a obě indikační kritéria splnilo 82 (15,5 %) pacientek.

Patogenní varianty byly nalezeny ve 12 genech z celkových 19 genů spojených se známou predispozicí ke vzniku EC. Frekvence mutací byla přibližně čtyřikrát vyšší u pacientek s EC (60/527; 11,4 %) než u populačních kontrol (46/1662; 2,8 %; $p = 9,7 \times 10^{-16}$). Nosiček PV v genech LS bylo nalezeno 27/527 (5,1 %), zatímco v populačních kontrolách bylo těchto nosiček 4/1662 (0,25 %). Patogenní varianty v genech LS tak představují nejvyšší rizikový faktor ke vzniku EC ($OR = 22,4$; $p = 1,8 \times 10^{-17}$). Nosiček PV v genech spojených s HBOC bylo mezi pacientkami s EC nalezeno 35/527 (6,6 %), zatímco v populačních kontrolách bylo nosiček 42/1662 (2,5 %, $p = 7,9 \times 10^{-5}$). Nejčastěji mutovanými geny byly *BRCA1* (11/35; 31,4 %), *BRCA2* (7/35; 20,0 %) a *CHEK2* (6/35; 11,4 %). Zastoupení nosiček PV v rámci skupin indikovaných ke genetickému vyšetření bylo podobné: LS – 16,6 %; HBOC – 18,8 %; LS+HBOC – 18,3 %. Frekvence nosiček PV v těchto skupinách byla přibližně třikrát vyšší než ve skupině pacientek, které nesplňovaly žádná indikační kritéria (6,1 %).

V ostatních kandidátních genech byly u pacientek identifikovány PV ve 48 genech z celkových 207. Frekvence nosiček PV u EC pacientek 66/527 (12,5 %) byla vyšší než v kontrolním souboru (122/1662; 7,3 %, $p = 0,004$). Při hodnocení asociace PV se vznikem EC byly vyřazeny všechny nosičky PV v hlavních predispozičních genech ze skupin pacientek i kontrol. Frekvence nosiček PV v kandidátních genech byla i po vyřazení těchto nosiček signifikantně vyšší u 467 pacientek (58/467; 12,4 %) než u 1616 kontrol (122/1616; 7,5 %; $p = 1,2 \times 10^{-5}$). Nejčastěji mutovanými geny byly *MUTYH* (heterozygotní PV; 5/467; 1,1 %) a *FANCA* (4/467; 0,8 %). Frekvence PV v těchto genech se ale nelišila od populačních kontrol (*MUTYH* – 18/1616; 1,1 %; *FANCA* – 10/1616; 0,6 %). PV v žádném genu nebyly spojeny se signifikantně zvýšeným rizikem vzniku EC.

U tří pacientek byly nalezeny trunkační varianty v genech kódujících DNA polymerázy ϵ (*POLE*, dvě varianty) a δ (*POLD1*, jedna varianta). Celková frekvence mutací v těchto dvou genech byla u pacientek (3/467; 0,6 %) významně vyšší než u kontrol (1/1616; 0,06 %) a tyto mutace jsou dohromady spojeny se signifikantně zvýšeným rizikem vzniku EC (OR = 10,44; p = 0,01).

Medián věku diagnózy EC byl signifikantně nižší u nosiček PV v LS genech (51,0 let) v porovnání s pacientkami bez mutace (61,4 let; p = 0,01). Rozdělení nosiček PV podle histologických typů nádorů neukázalo žádný statistický rozdíl.

Nejvyšší četnost PV v hlavních predispozičních genech byla u pacientek, které vyvinuly tři nezávislé tumory (3/13; 23,1 %), a u pacientek, které jako druhý tumor k EC vyvinuly kolorektální karcinom (7/31; 22,6 %). Nosičky PV v genech LS byly více zastoupeny u pacientek s EC a kolorektálním karcinomem, stejně jako u pacientek s třemi tumory. Obdobně byly nosičky PV v HBOC genech více zastoupeny u pacientek, které k EC vyvinuly karcinom ovaria nebo prsu. Všechny třináct pacientek s třemi tumory vyvinulo buď karcinom kolorekta (5/13; 38,4 %) a/nebo karcinom ovaria (10/13; 76,9 %).

Z hlediska rodinné nádorové anamnézy se ukázalo, že nejvyšší zastoupení nosiček PV v hlavních predispozičních genech (40 %) bylo u malé skupiny pacientek s vícečetným výskytem nádorů v rodině a u pacientek s rodinným výskytem karcinomu ovaria.

Prevalence nosiček PV v kandidátních genech se neodlišovala od pacientek bez mutace v žádné z klinicko-patologických kategorií.

Diskuze

Karcinom pankreatu

Ve výzkumu zaměřujícím se vyšetření genetické predispozice u PDAC jsme analyzovali 226 pacientů s tímto onemocněním. Celkově jsme identifikovali 14,6 % (33/226) nosičů zárodečných PV, z toho 18 nosičů PV v hlavních predispozičních genech (8,0 %). Podobné frekvence PV byly zjištěny ve studiích s neselektovanými pacienty z USA (7,7 %) a Kanady (10,7 %) (Brand et al., 2018, Cremin et al., 2020). V evropských pracích byly publikovány frekvence nosičů PV mezi 2-7 % (Lener et al., 2016, Earl et al., 2020, Fountzilias et al., 2021).

Nejčastěji mutovanými hlavními predispozičními geny byly *BRCA2* (9×), *BRCA1* (3×) a *ATM* (3×). Varianty v těchto třech genech představovaly 83,3 % (15/18) všech PV v hlavních predispozičních genech. Zdaleka nejčastěji mutovaným genem byl *BRCA2*, jehož devět nosičů představovalo jednu polovinu všech nosičů PV v PDAC predispozičních genech a 4 % všech pacientů. *BRCA2* společně s *BRCA1* kóduje proteiny účastníci se DNA reparačních pochodů (HR) (Wright et al., 2018) a jsou hlavními predispozičními geny u pacientů s HBOC syndromem (Schubert et al., 2019). U nosičů mutací v obou genech jsme prokázali statisticky významné vysoce zvýšené riziko vzniku PDAC (*BRCA1*: OR = 10,4, p = 0,04; *BRCA2*: OR = 6,4, p = 0,0009). Na rozdíl od karcinomu prsu, u něhož je frekvence PV v *BRCA1* vyšší než v *BRCA2*, u PDAC je tomu naopak (Claes et al., 2004, Pohlreich et al., 2005). V naší práci jsme našli 1,3 % PV v genu *BRCA1* a 4,0 % PV v genu *BRCA2*. Podobná frekvence byla popsána i v dalších studiích, u pacientů s PDAC se PV v *BRCA2* objevují s 2-4× vyšší frekvencí než v *BRCA1* (Lowery et al., 2018, Hu et al., 2018, Dudley et al., 2018). V kontrastu s tím stojí dvě studie z USA, které našly stejnou frekvenci PV v obou genech (Yurgelun et al., 2019, Brand et al., 2018). Riziko asociované s PV v *BRCA1* bylo v naší studii vyšší než pro *BRCA2*, nicméně široké rozmezí konfidenčního intervalu pro *BRCA1* riziko a vyšší prevalence PV v *BRCA2* napovídá, že skutečné riziko PDAC je pro *BRCA1* nižší než pro *BRCA2*. Tento závěr je podpořen zahraniční studií od Hu *et al.* (*BRCA1*: OR = 2,6 vs. *BRCA2*: OR = 6,2) (Hu et al., 2018).

Všichni tři nosiči zárodečných mutací v *BRCA1* měli pozitivní rodinnou nádorovou anamnézu. Všichni měli rodinný výskyt karcinomu spojeným s HBOC syndromem (karcinom

prsu/ovaria) a dva měli i rodinný výskyt PDAC. Dva nosiči rovněž před PDAC vyvinuli karcinom ovaria, zatímco třetí vyvinul pouze PDAC.

Z devíti nosičů zárodečných mutací v *BRCA2* genu mělo pozitivní rodinnou nádorovou anamnézu 7 nosičů (77,8 %). V rodinách těchto nosičů byl výskyt karcinomu prsu (3×), PDAC (3×) a karcinomu kolorekta (2×). Čtyři nosiči (44,4 %) před diagnózou PDAC vyvinuli karcinom prsu.

Stejná frekvence PV jako *BRC1* byla nalezena u genu *ATM* (3/226; 1,3 %). Bialelická inaktivace *ATM* způsobuje onemocnění ataxia telangiectasia (Rothblum-Oviatt et al., 2016), zatímco heterozygotní zárodečné PV jsou spojeny se středním rizikem vzniku některých tumorů, včetně BC a PDAC (Armstrong et al., 2019). Všichni nosiči PV v *ATM* měli pozitivní rodinnou nádorovou anamnézu. Dva nosiči měli rodinný výskyt kolorektálního karcinomu a jeden karcinomu močového měchýře. Ani jeden ze tří nosičů nevyvinul další tumor k PDAC. V naší studii nebylo dosaženo staticky významné asociace PV v *ATM* se vznikem PDAC. To může být dáno malou velikostí námi vyšetřovaného souboru pacientů. Nicméně, statisticky významně zvýšené riziko vzniku PDAC u nosičů PV v genu *ATM* bylo popsáno v rozsáhlých studiích z Kanady (OR = 7,7) a USA (OR = 5,7) (Hu et al., 2018, Cremin et al., 2020).

PALB2 je nádorovým predispozičním genem, jehož proteinový produkt se účastní DNA opravné dráhy HR. Zárodečné PV *PALB2* jsou spojeny zejména s predispozicí ke karcinomu prsu, ale také k PDAC a další asociace je možná s karcinomy ovaria nebo kolorekta (Yang et al., 2020). Identifikovali jsme dva nosiče (2/226; 0,9 %) shodné zárodečné PV c.509_510del, p.(Arg170IlefsTer14). Oba nosiči měli negativní rodinnou nádorovou anamnézu a před PDAC nevyvinuli žádný další tumor. I když naše výsledky naznačují mírně zvýšené riziko vzniku PDAC pro nosiče zárodečných PV v *PALB2*, asociace s PDAC nedosáhla statisticky významné hladiny (OR = 3,5; p = 0,2). Podobně zvýšeného rizika se statisticky významnou asociací s PDAC dosáhla rozsáhlá zahraniční studie zaměřující se na vztah zárodečných PV v *PALB2* k různým nádorovým onemocněním (RR = 2,37, p = 0,009) (Yang et al., 2020).

TP53 je tumor supresorový gen, jehož zárodečné mutace způsobují Liův-Fraumeniho syndrom, typický svým širokým spektrem nádorových onemocnění, mezi něž patří karcinom prsu, sarkomy kostí a tumory mozku (Kamihara et al., 2014). Zárodečná PV v *TP53* byla nalezena u jednoho pacienta, který měl pozitivní rodinnou nádorovou anamnézu (výskyt PDAC a karcinomu prsu) a vyvinul pouze PDAC. Asociaci PDAC s genem *TP53* zatím

popsali pouze Ruijs *et al.* Dva pacienti v této práci, kteří vyvinuli PDAC, byli nosiči zárodečné PV v exonech 5 a 6 podobně jako námi identifikovaný nosič (exon 5) (Ruijs *et al.*, 2010). Podobně jako u PV v *PALB2*, nepozorovali jsme statisticky významnou asociaci se vznikem PDAC.

Mezi kandidátními geny, jejichž asociace se vznikem PDAC není známá, byl počet nosičů PV nejvyšší v genech *CHEK2* (5×), *ERCC4* (4×) a *NBN* (3×). Nosiči PV v genu *CHEK2* představovali 2,2 % všech PDAC pacientů (5/226). Jedná se o dokonce vyšší frekvenci PV než u genu *BRCA1*. *CHEK2* je asociován s predispozicí k různým nádorovým onemocněním, jako jsou karcinomy prsu, prostaty a pankreatu, a je spojen s nízkou až střední penetrancí (Cybulski *et al.*, 2004, Stolarova *et al.*, 2020a). Zvýšená frekvence PV v *CHEK2* u PDAC pacientů byla zmíněna v několika NGS studiích, v žádné ale nebylo dosaženo statisticky významné asociace (Fountzilias *et al.*, 2021, Hu *et al.*, 2018, Zhan *et al.*, 2018). V naší studii byl *CHEK2* jediným z kandidátních genů, u něhož jsme popsali statisticky významně zvýšené riziko vzniku PDAC u nosičů zárodečných PV variant.

Z našich výsledků vyplývá, že pozitivní rodinná nádorová anamnéza je významným rizikovým faktorem pro identifikaci nosičů zárodečných PV v hlavních PDAC predispozičních genech. Pacienti s PDAC, jejichž příbuzní (první a druhý stupeň) vyvinuli PDAC, karcinom prsu/ovaria/kolorekta nebo melanom, měli podstatně vyšší pravděpodobnost, že jsou nosiči zárodečné PV v hlavních PDAC predispozičních genech, ve srovnání s pacienty bez rodinné nádorové anamnézy (OR = 4,9; p = 0,004). Podobně Salo-Mullen *et al.* a Hu *et al.* pozorovali významnou roli rodinné nádorové anamnézy coby rizikového faktoru (Salo-Mullen *et al.*, 2015, Hu *et al.*, 2018). Shindo *et al.* nicméně upozorňují na nutnost zvážení i dalších faktorů kromě rodinné nádorové anamnézy, v čemž s nimi souhlasí další dvě americké studie (Shindo *et al.*, 2017, Lowery *et al.*, 2018, Dudley *et al.*, 2018).

Dále jsme zjistili, že přítomnost dalšího nádorového onemocnění (karcinom prsu/ovaria/kolorekta, melanom) u probanda spolu s PDAC je silným ukazatelem přítomnosti zárodečné PV v některém z hlavních PDAC predispozičních genů, jak ostatně bylo již dříve publikováno (Dudley *et al.*, 2018).

Z našich výsledků nebyl patrný žádný rozdíl ve věku diagnózy mezi nosiči PV v hlavních PDAC predispozičních genech a pacienty bez zárodečné PV. Podobné výsledky byly zjištěny v pracích z USA a Kanady (Grant *et al.*, 2015, Smith *et al.*, 2016). Nicméně, některé studie publikovaly rozdílný věk v době diagnózy pro nosiče zárodečných PV

a pacienty bez PV. Salo-Mullen *et al.* uváděli tento rozdíl 58 vs. 64 let (Salo-Mullen *et al.*, 2015) a Yadav *et al.* pozorovali rozdíl 63 vs. 66 let (Yadav *et al.*, 2020). Souvislost přítomnosti zárodečné PV a věkem diagnózy PDAC je proto dosud nejasná. Současné CAPS směrnice nedoporučují skreening vysoce rizikových jedinců před 50. rokem života, s výjimkou pacientů s Peutzovým-Jeghersovým syndromem a hereditární pankreatitidou (Goggins *et al.*, 2020).

NCCN (National Comprehensive Cancer Network) směrnice v současné verzi 2.2023 doporučují genetické testování všech pacientů s PDAC, stejně jako přímých příbuzných pacienta s PDAC (nccn.org). Česká doporučení Společnosti lékařské genetiky ČLS JEP od loňského roku zahrnují genetické testování u všech pacientů s PDAC (<https://slg.cz/doporučení/testování-brca-lecba/>).

Analýza přežití PDAC pacientů potvrdila pozitivní dopad zárodečné PV na celkové přežití pacientů (15,9 vs. 12,4 měsíců). Nejlepší přežití vykazovali nosiči zárodečné PV v genech účastnících se procesů HR (21,4 vs. 12,4 měsíců). Podobná data publikovali Golstein *et al.* (17,9 vs. 9,6 měsíců), Fountzilias *et al.* (22,6 vs. 13,9 měsíců) a Yurgelun *et al.* (34,4 vs. 19,1 měsíců) (Goldstein *et al.*, 2020, Fountzilias *et al.*, 2021, Yurgelun *et al.*, 2019). Zárodečné PV v genech neúčastnících se HR byly spojeny s horším přežitím (4,7 vs. 12,4 měsíců; OR = 3,26; p = 0,017). Nicméně, tyto výsledky pocházejí z velmi malého souboru devíti pacientů, u nichž byl tumor prognosticky nepříznivě lokalizován. Výsledky je tak nutno potvrdit na větším souboru pacientů.

Znalost zárodečných PV a s nimi spojené riziko vzniku PDAC má zásadní význam jak pro pacienty s PDAC, tak pro jejich příbuzné. Na základě přítomnosti zárodečných variant lze rozhodnout o nasazení specifických terapeutik, jako jsou například inhibitory PD-1 dráhy (programmed death receptor-1) u pacientů s mutacemi v MMR genech nebo inhibitory PARP (poly(ADP-riboza)polymerázy) pro pacienty s mutacemi v HR genech (Golan *et al.*, 2019, Le *et al.*, 2017).

Rodinná nádorová anamnéza spoléhala na nahlášení údajů pacientem, což může potenciálně vést k nepřesnostem v lékařském záznamu. Pro přesné určení rizik a formulování doporučení ohledně nosičů PV je nutné provést další a větší studie s detailními informacemi o osobní i rodinné nádorové anamnéze.

Karcinom endometria

Ve výzkumu zaměřujícím se na vyšetření genetické predispozice u EC jsme analyzovali 527 pacientek s tímto onemocněním. Celkově jsme identifikovali 118 (22,4 %) zárodečných PV, z toho 60 nosiček PV v hlavních EC predispozičních genech (11,4 %).

Dědičné genetické riziko vzniku EC je v současné době spojeno výhradně se zárodečnými PV v genech spojených s LS. V této práci představovaly nosičky PV v LS genech 5,1 % všech vyšetřených EC pacientek. Frekvence nosičů PV v LS genech se v zahraničních publikacích pohybují ve velmi širokém rozpětí 1,1-22,7 %. Proměnlivá frekvence nosičů PV v rámci těchto studií je způsobena různými kritérii pro výběr pacientek. Zatímco studie uvádějící nejvyšší frekvence nosičů PV v LS genech zahrnovaly EC pacientky s vysokým rizikem, u nichž byla LS pozitivní rodinná anamnéza nebo imunohistochemické vyšetření MMR genů, studie uvádějící nižší frekvence nosičů vyšetřovaly pacientky z neselektované populace. Frekvence našich nosičů PV v LS genech se nachází ve středu spektra. Naše výsledky odpovídají rozdílnému přístupu ve výběru pacientek. Ve skupině pacientek, které splňovaly indikační kritéria pro genetické testování pacientek s LS, bylo zastoupení nosiček PV v LS genech 22/233 (9,4 %), ve srovnání s 5/294 (1,7 %) nosiček ve skupině pacientek nesplňujících LS indikační kritéria. Tyto hodnoty tak odpovídají publikovaným výsledkům u vysoce rizikových pacientek (Karpel *et al.*) a neselektovaných pacientek (Huang *et al.*). Rizika vzniku EC pro nosiče PV v predispozičních genech jsou vyčíslena pouze v jedné publikaci (LaDuca *et al.*, 2020). Ačkoliv se frekvence nosičů v této publikaci lišily od našich výsledků, celkové riziko EC pro nosiče PV v LS genech bylo podobné (Král *et al.*: OR = 22,4; LaDuca *et al.*: OR = 20,1).

Třebaže méně než pětina vyšetřených EC pacientek splňovala HBOC indikační kritéria pro genetické vyšetření (98/527; 18,6 %), celková frekvence nosiček PV v genech *BRCA1/BRCA2* byla výrazně vyšší než u ostatních studií (3,42 % vs. 0-2,2 %). Z 16 pacientek, které splňovaly pouze indikační kritéria pro HBOC syndrom, a ne pro LS, byly tři nosičky zárodečných PV v *BRCA1* a *BRCA2* (3/16; 18,8 %). Ve skupině pacientek, které splňovaly obě indikační kritéria, byla celková frekvence PV v *BRCA1* stejná jako všechny PV v LS genech (5/82; 6,1 %). PV v genu *BRCA2* se v této skupině nenacházely. Nicméně, riziko vzniku EC bylo pro nosičky PV v *BRCA1/2* genech nižší než pro nosičky PV v LS genech. Toto riziko bylo pro *BRCA1* podobné tomu, které uvádějí LaDuca *et al.* (Král *et al.*: OR = 3,9 vs. LaDuca *et al.*: OR = 3,1), ovšem pro nosičky zárodečných PV v *BRCA2* bylo vyšší, než uvádějí LaDuca *et al.* (Král *et al.*: OR = 7,4 vs. LaDuca *et al.*: OR = 2,4). Naše výsledky

naznačují, že zárodečné PV v genech *BRCA1* jsou spojeny se středním rizikem EC, zatímco PV v genu *BRCA2* jsou spojeny s vysokým rizikem. EC by tak mohl představovat další projev HBOC syndromu a měl by být zařazen do indikačních kritérií ke genetickému testování u těchto pacientů. Toto stanovisko je podpořeno malou studií provedenou Vietri *et al.*, která identifikovala nosičky PV v *BRCA1/BRCA2* u 9/21 pacientek s dědičnou formou EC. Tyto pacientky navíc splňovaly HBOC indikační kritéria (Vietri *et al.*, 2021).

Mezi dalšími HBOC geny byl nejčastější výskyt PV v genech *CHEK2* (6/527; 1,1 %) a *ATM* (5/527; 1,0 %). U genu *CHEK2* bylo prokázáno statisticky významně zvýšené riziko vzniku EC u nosiček PV (OR = 3,2, p = 0,04). Mutace v genu *CHEK2* byly již dříve spojeny s predispozicí k EC v naší populaci (Stolarova *et al.*, 2020b). Asociaci mutací genu *CHEK2* udává i práce z USA (Karpel *et al.*, 2022).

Pouze dvě zahraniční práce publikovaly nález zárodečných mutací v *ATM* (Cadoo *et al.*, 2019, Johnatty *et al.*, 2021). Johnatty *et al.* pozorovali stejnou prevalenci nosičů PV v *ATM* (1,0 %), zatímco Cadoo *et al.* zaznamenali téměř dvojnásobnou prevalenci (1,9 %). Rizika vzniku EC spojená s mutacemi v *ATM* nejsou známa.

Žádný z jednotlivých kandidátních genů neprokázal staticky významnou asociaci se vznikem EC. Pouze u genů kódujících DNA polymerázy *POLD1* a *POLE* byla pozorována společná asociace s EC. V těchto genech jsme identifikovali tři zárodečné varianty vedoucí ke vzniku zkráceného proteinového produktu (*POLD1* 1×, *POLE* 2×). Riziko vzniku EC u nosičů těchto variant je významně zvýšené (OR = 10,44; p = 0,01). Zárodečné missense mutace postihující exonukleázové domény v obou těchto genech byly již dříve asociovány s predispozicí k EC (Spurdle *et al.*, 2017), přičemž somatické mutace v *POLE* představují významný prognostický marker EC (Yen *et al.*, 2020, Leon-Castillo *et al.*, 2020, Green *et al.*, 2020). Pro přesné určení role zárodečných trunkačních variant v *POLD1* a *POLE* je nicméně nutné provést analýzu podstatně větší kohorty pacientek, a to zejména kvůli vzácnému výskytu nosiček mutací v těchto genech.

Analýza klinicko-patologických charakteristik potvrdila dříve publikovaná data, že věk diagnózy je u nosiček PV v LS genech nižší ve srovnání s pacientkami bez PV (Ring *et al.*, 2016, Long *et al.*, 2019, Tian *et al.*, 2019, Levine *et al.*, 2021). Nicméně i v samotné skupině LS genů se průměrný věk diagnózy lišil. Zatímco u nosiček PV v genech *MLH1/MSH2* byl průměrný věk diagnózy 48 let, pro nosičky PV v *MSH6* se jednalo o 56 let. Tento výsledek je v souladu s již dříve publikovanými údaji (Ryan *et al.*, 2017, Tian *et al.*,

2019). Pro pacientky s PV v HBOC genech se věk diagnózy nelišil od pacientek bez PV, což také odpovídá dříve publikovaným výsledkům (Levine et al., 2021).

Ostatní rozdíly v klinicko-patologických charakteristikách nosiček PV odpovídají tomu, do jaké podskupiny byly pacientky zařazeny na základě indikačních kritérií pro zárodečné genetické testování. Nejvyšší frekvence nosiček PV v LS genech byla u pacientek, s ≥ 3 tumory, u pacientek s karcinomem kolorekta jako sekundárním tumorem a u pacientek s rodinnou anamnézou obsahující vícečetné nádory nebo karcinom kolorekta. Obdobně byla nejvyšší frekvence nosiček PV v HBOC genech mezi těmi pacientkami, které vyvinuly tumor spojený s HBOC syndromem (karcinom prsu/ovaria) a které měly rodinný výskyt HBOC tumorů. Nosičky PV v kandidátních genech se nijak nelišily od pacientek bez PV.

Celková frekvence nosiček PV byla mezi EC pacientkami s dvěma tumory 15,4 % (33/214). Ve skupině 69 pacientek, které vyvinuly EC i karcinom ovaria, bylo osm nosiček PV v HBOC genech (11,6 %) a čtyři nosičky PV v LS genech (5,8 %; zahrnuta i nosička souběžné mutace v *BRCA1* a *MLH1*, u níž byly diagnostikovány EC, karcinom ovaria a karcinom prsu). Ve skupině 34 pacientek s EC a karcinomem kolorekta bylo identifikováno osm nosiček PV v LS genech (23,5 %) a pouze jediná nosička PV v HBOC genu (*CHEK2*; 2,9 %). Tyto výsledky naznačují, že samotná přítomnost dvou primárních tumorů by mohla představovat hlavní indikační kritérium pro zárodečné genetické testování, jak ostatně potvrzují předchozí publikace (Bychkovsky et al., 2022, Lhotova et al., 2020, Wieme et al., 2021, Stolarova et al., 2020a).

Dle očekávání byla naprostá většina nosiček PV identifikována mezi pacientkami splňujícími některá z indikačních kritérií ke genetickému testování, přičemž nalezené PV korespondovaly s indikovaným syndromem. Celkově 43/60 (71,7 %) nosiček PV bylo indikováno ke genetickému vyšetření. Nicméně, 17 nosiček PV by za současných podmínek nebylo indikováno k žádnému genetickému vyšetření. Tyto nosičky představují více než jednu čtvrtinu (28,3 %) všech identifikovaných nosiček PV. Objevily se mezi nimi PV jak v LS genech (*MLH1*, *MSH6*), tak v HBOC genech (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CHEK2*). Z těchto 17 nosiček dvě vyvinuly sekundární tumor a sedm mělo výskyt nádorového onemocnění v rodině, ovšem v kombinacích, které nesplňují současná indikační kritéria ke genetickému testování.

Přednostmi této studie jsou homogenita studované populace, složené ze slovanské české populace, a použití populačně specifických kontrol, které umožnily vyčíslení rizik

vzniku EC. Limitace této studie spočívají v tom, že byla prováděna retrospektivně a že u nádorové tkáně nebylo v době diagnózy provedeno imunohistochemické vyšetření MMR genů a stanovení MSI. Další limitací je také povaha analyzovaného souboru, který byl více než z poloviny tvořen pacientkami konsorcia CZEKANCA (291/527; 55,4 %), které se zaměřuje výzkum nádorové predispozice. Není tak možné vyloučit potenciální zkreslení výsledků ve prospěch vyšší prevalence nosiček PV. Abychom minimalizovali toto zkreslení, rozdělili jsme pacientky na základě indikačních kritérií a následně je analyzovali odděleně.

Závěry

Karcinom pankreatu

V souboru 226 pacientů/tek s PDAC jsme identifikovali celkem 8 % nosičů zárodečných PV ve známých predispozičních genech, nejčastěji v genu *BRCA2* (50 % všech nosičů). Mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2* byly spojeny se signifikantně zvýšených rizikem vzniku tohoto onemocnění. Zárodečné PV byly častější u pacientů s dalším tumorem v osobní anamnéze a s pozitivní rodinnou nádorovou anamnézu (PDAC, karcinom prsu, ovaria, kolorekta, melanom). Přítomnost PV v genech podílejících se na opravě poškozené DNA cestou HR (*BRCA2*, *ATM*, *BRCA1* a další) byla spojena s lepší dobou přežití pacientů.

Karcinom endometria

V souboru 527 pacientek s EC jsme identifikovali více než 11 % nosiček PV v genech se známou nádorovou predispozicí, a to hlavně ve skupině genů pro LS (nejvíce *MSH6*) a genů pro HBOC (nejvíce *BRCA1*). Zárodečné PV v LS genech byly spojeny s výrazně zvýšeným rizikem vzniku EC a s nižším věkem v době diagnózy onemocnění. Riziko spojené s PV v HBOC genech *BRCA1*, *BRCA2* a *CHEK2* bylo nižší, nicméně stále signifikantně zvýšené. PV byly častější u pacientek s pozitivní osobní a rodinnou nádorovou anamnézou. EC pacientky, které splnily LS indikační kritéria, měly 5× vyšší riziko, že budou nosičkami zárodečné PV v LS genech oproti pacientkám, které tato indikační kritéria nesplňovaly. Nicméně, stále celkem 28,3 % nosiček PV v klinicky relevantních genech nebylo zachyceno současnými indikačními kritérii ke genetickému testování. Proto by bylo vhodné zařadit EC mezi indikační kritéria HBOC syndromu, ať už jako sekundární tumor u pacientky, nebo v rámci rodinného výskytu.

Identifikace zárodečných PV u pacientů s dědičnými nádorovými onemocněními může rozhodnout o rozsahu a volbě adekvátní chemoterapie (například založené na použití PARP inhibitorů nebo derivátů platiny) a o následné péči. Genetické testování příbuzných nosiče zárodečné PV navíc slouží k identifikaci vysoce rizikových pacientů, u nichž je možné zaměřit se na cílenou prevenci a včasnou diagnostiku souvisejících nádorových onemocnění.

Použitá literatura

- ABE, K., KITAGO, M., KITAGAWA, Y. & HIRASAWA, A. 2021. Hereditary pancreatic cancer. *Int J Clin Oncol*, 26, 1784-1792.
- ARMSTRONG, S. A., SCHULTZ, C. W., AZIMI-SADJADI, A., BRODY, J. R. & PISHVAIAN, M. J. 2019. ATM Dysfunction in Pancreatic Adenocarcinoma and Associated Therapeutic Implications. *Mol Cancer Ther*, 18, 1899-1908.
- BORECKA, M., ZEMANKOVA, P., LHOTA, F., SOUKUPOVA, J., KLEIBLOVA, P., VOCKA, M., SOUCEK, P., TICHA, I., KLEIBL, Z. & JANATOVA, M. 2016. The c.657del5 variant in the NBN gene predisposes to pancreatic cancer. *Gene*, 587, 169-172.
- BRAND, R., BORAZANCI, E., SPEARE, V., DUDLEY, B., KARLOSKI, E., PETERS, M. L. B., STOBIE, L., BAHARY, N., ZEH, H., ZUREIKAT, A., HOGG, M., LEE, K., TSUNG, A., RHEE, J., OHR, J., SUN, W., LEE, J., MOSER, A. J., DELEONARDIS, K., KREJDOVSKY, J., DALTON, E., LADUCA, H., DOLINSKY, J., COLVIN, A., LIM, C., BLACK, M. H. & TUNG, N. 2018. Prospective study of germline genetic testing in incident cases of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer*, 124, 3520-3527.
- BYCHKOVSKY, B. L., LO, M. T., YUSSUF, A., HORTON, C., RICHARDSON, M., LADUCA, H., GARBER, J. E. & RANA, H. Q. 2022. Prevalence and spectrum of pathogenic variants among patients with multiple primary cancers evaluated by clinical characteristics. *Cancer*, 128, 1275-1283.
- CADDOO, K. A., MANDELKER, D. L., MUKHERJEE, S., STEWART, C., DELAIR, D., RAVICHANDRAN, V., SRINIVASAN, P., HURLEY, D., KEMEL, Y., ARNOLD, A. G., SHEEHAN, M., PRADHAN, N., JOSEPH, V., CHI, D. S., GARDNER, G. J., JEWELL, E. L., LEITAO, M. M., JR., ROCHE, K. L., MUELLER, J. J., SONODA, Y., ZIVANOVIC, O., WALSH, M., CARLO, M. I., BERGER, M. F., HYMAN, D., ZHANG, L., ROBSON, M. E., OFFIT, K., AGHAJANIAN, C., RUSTUM, N. R. A. & STADLER, Z. 2019. Understanding inherited risk in unselected newly diagnosed patients with endometrial cancer. *JCO Precis Oncol*, 3.
- CLAES, K., POPPE, B., COENE, I., PAEPE, A. D. & MESSIAEN, L. 2004. BRCA1 and BRCA2 germline mutation spectrum and frequencies in Belgian breast/ovarian cancer families. *Br J Cancer*, 90, 1244-51.
- CREMIN, C., LEE, M. K., HONG, Q., HOESCHEN, C., MACKENZIE, A., DIXON, K., MCCULLUM, M., NUK, J., KALLOGER, S., KARASINSKA, J., SCUDAMORE, C., KIM, P. T. W., DONNELLAN, F., LAM, E. C. S., LIM, H. J., NEBEN, C. L., STEDDEN, W., ZHOU, A. Y., SCHAEFFER, D. F., SUN, S., RENOUF, D. J. & SCHRADER, K. A. 2020. Burden of hereditary cancer susceptibility in unselected patients with pancreatic ductal adenocarcinoma referred for germline screening. *Cancer Med*, 9, 4004-4013.
- CYBULSKI, C., GORSKI, B., HUZARSKI, T., MASOJC, B., MIERZEJEWSKI, M., DEBNIAK, T., TEODORCZYK, U., BYRSKI, T., GRONWALD, J., MATYJASIK, J., ZLOWOCKA, E., LENNER, M., GRABOWSKA, E., NEJ, K., CASTANEDA, J., MEDREK, K., SZYMANSKA, A., SZYMANSKA, J., KURZAWSKI, G., SUCHY, J., OSZUREK, O., WITEK, A., NAROD, S. A. & LUBINSKI, J. 2004. CHEK2 is a multiorgan cancer susceptibility gene. *Am J Hum Genet*, 75, 1131-5.
- DOI, H., KOYANO, S., MIYATAKE, S., NAKAJIMA, S., NAKAZAWA, Y., KUNII, M., TOMITAKATSUMOTO, A., ODA, K., YAMAGUCHI, Y., FUKAI, R., IKEDA, S., KATO, R., OGATA, K., KUBOTA, S., HAYASHI, N., TAKAHASHI, K., TADA, M., TANAKA, K., NAKASHIMA, M., TSURUSAKI, Y., MIYAKE, N., SAITSU, H., OGI, T., AIHARA, M., TAKEUCHI, H., MATSUMOTO, N. & TANAKA, F. 2018. Cerebellar ataxia-dominant phenotype in patients with ERCC4 mutations. *J Hum Genet*, 63, 417-423.
- DUDLEY, B., KARLOSKI, E., MONZON, F. A., SINGHI, A. D., LINCOLN, S. E., BAHARY, N. & BRAND, R. E. 2018. Germline mutation prevalence in individuals with pancreatic cancer and a history of previous malignancy. *Cancer*, 124, 1691-1700.
- EARL, J., GALINDO-PUMARINO, C., ENCINAS, J., BARRETO, E., CASTILLO, M. E., PACHON, V., FERREIRO, R., RODRIGUEZ-GARROTE, M., GONZALEZ-MARTINEZ, S., RAMON, Y. C. T., DIAZ, L. R., CHIRIVELLA-GONZALEZ, I., RODRIGUEZ, M., DE CASTRO, E. M., GARCIA-SEISDEDOS, D., MUNOZ, G., ROSA, J. M. R., MARQUEZ, M., MALATS, N. & CARRATO, A. 2020. A comprehensive analysis of candidate genes in familial pancreatic cancer families reveals a high frequency of potentially pathogenic germline variants. *EBioMedicine*, 53, 102675.
- FORETOVA, L., MACHACKOVA, E. & GAILLYOVA, R. 2022. *Hereditární nádorová onemocnění v klinické praxi*, Praha, Grada Publishing.
- FOUNTZILAS, E., ELIADES, A., KOLIOU, G. A., ACHILLEOS, A., LOIZIDES, C., TSANGARAS, K., PECTASIDES, D., SGOUROS, J., PAPAKOSTAS, P., RALLIS, G., PSYRRI, A., PAPADIMITRIOU, C., OIKONOMOPOULOS, G., FERENTINOS, K., KOUMARIANOU, A., ZARKAVELIS, G.,

- DERVENIS, C., ARAVANTINOS, G., BAFALOUKOS, D., KOSMIDIS, P., PAPAXOINIS, G., THEOCHARI, M., VARTHALITIS, I., KENTEPOZIDIS, N., RIGAKOS, G., SARIDAKI, Z., NIKOLAIDI, A., CHRISTOPOULOU, A., FOSTIRA, F., SAMANTAS, E., KYPRI, E., IOANNIDES, M., KOUMBARIS, G., FOUNTZILAS, G. & PATSALIS, P. C. 2021. Clinical Significance of Germline Cancer Predisposing Variants in Unselected Patients with Pancreatic Adenocarcinoma. *Cancers (Basel)*, 13.
- GOGGINS, M., OVERBEEK, K. A., BRAND, R., SYNGAL, S., DEL CHIARO, M., BARTSCH, D. K., BASSI, C., CARRATO, A., FARRELL, J., FISHMAN, E. K., FOCKENS, P., GRESS, T. M., VAN HOOFT, J. E., HRUBAN, R. H., KASTRINOS, F., KLEIN, A., LENNON, A. M., LUCAS, A., PARK, W., RUSTGI, A., SIMEONE, D., STOFFEL, E., VASEN, H. F. A., CAHEN, D. L., CANTO, M. I., BRUNO, M. & INTERNATIONAL CANCER OF THE PANCREAS SCREENING, C. 2020. Management of patients with increased risk for familial pancreatic cancer: updated recommendations from the International Cancer of the Pancreas Screening (CAPS) Consortium. *Gut*, 69, 7-17.
- GOLAN, T., HAMMEL, P., RENI, M., VAN CUTSEM, E., MACARULLA, T., HALL, M. J., PARK, J. O., HOCHHAUSER, D., ARNOLD, D., OH, D. Y., REINACHER-SCHICK, A., TORTORA, G., ALGUL, H., O'REILLY, E. M., MCGUINNESS, D., CUI, K. Y., SCHLIENGER, K., LOCKER, G. Y. & KINDLER, H. L. 2019. Maintenance Olaparib for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *N Engl J Med*, 381, 317-327.
- GOLDSTEIN, J. B., ZHAO, L., WANG, X., GHELMAN, Y., OVERMAN, M. J., JAVLE, M. M., SHROFF, R. T., VARADHACHARY, G. R., WOLFF, R. A., MCALLISTER, F., FUTREAL, A. & FOGELMAN, D. R. 2020. Germline DNA Sequencing Reveals Novel Mutations Predictive of Overall Survival in a Cohort of Patients with Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res*, 26, 1385-1394.
- GRANT, R. C., SELANDER, I., CONNOR, A. A., SELVARAJAH, S., BORGIDA, A., BRIOLLAIS, L., PETERSEN, G. M., LERNER-ELLIS, J., HOLTER, S. & GALLINGER, S. 2015. Prevalence of germline mutations in cancer predisposition genes in patients with pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 148, 556-64.
- GREEN, A. K., FEINBERG, J. & MAKKER, V. 2020. A Review of Immune Checkpoint Blockade Therapy in Endometrial Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 40, 1-7.
- HU, C., LADUCA, H., SHIMELIS, H., POLLEY, E. C., LILYQUIST, J., HART, S. N., NA, J., THOMAS, A., LEE, K. Y., DAVIS, B. T., BLACK, M. H., PESARAN, T., GOLDFAR, D. E., DOLINSKY, J. S. & COUCH, F. J. 2018. Multigene Hereditary Cancer Panels Reveal High-Risk Pancreatic Cancer Susceptibility Genes. *JCO Precis Oncol*, 2.
- CHYZANOWSKA, K. H., GREGOREK, H., DEMBOWSKA-BAGINSKA, B., KALINA, M. A. & DIGWEED, M. 2012. Nijmegen breakage syndrome (NBS). *Orphanet J Rare Dis*, 7, 13.
- JOHNATTY, S. E., PESARAN, T., DOLINSKY, J., YUSSUF, A., LADUCA, H., JAMES, P. A., O'MARA, T. A. & SPURDLE, A. B. 2021. Case-case analysis addressing ascertainment bias for multigene panel testing implicates BRCA1 and PALB2 in endometrial cancer. *Hum Mutat*, 42, 1265-1278.
- KAMIHARA, J., RANA, H. Q. & GARBER, J. E. 2014. Germline TP53 mutations and the changing landscape of Li-Fraumeni syndrome. *Hum Mutat*, 35, 654-62.
- KARPEL, H. C., CHERN, J. Y., SMITH, J. M., SMITH, A. J. & POTHURI, B. 2022. Utility of germline multi-gene panel testing in patients with endometrial cancer. *Gynecol Oncol*, 165, 546-551.
- LADUCA, H., POLLEY, E. C., YUSSUF, A., HOANG, L., GUTIERREZ, S., HART, S. N., YADAV, S., HU, C., NA, J., GOLDFAR, D. E., FULK, K., SMITH, L. P., HORTON, C., PROFATO, J., PESARAN, T., GAU, C. L., PRONOLD, M., DAVIS, B. T., CHAO, E. C., COUCH, F. J. & DOLINSKY, J. S. 2020. 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*, 22, 407-415.
- LE, D. T., DURHAM, J. N., SMITH, K. N., WANG, H., BARTLETT, B. R., AULAKH, L. K., LU, S., KEMBERLING, H., WILT, C., LUBER, B. S., WONG, F., AZAD, N. S., RUCKI, A. A., LAHERU, D., DONEHOWER, R., ZAHEER, A., FISHER, G. A., CROCENZI, T. S., LEE, J. J., GRETEN, T. F., DUFFY, A. G., CIOMBOR, K. K., EYRING, A. D., LAM, B. H., JOE, A., KANG, S. P., HOLDHOFF, M., DANILOVA, L., COPE, L., MEYER, C., ZHOU, S., GOLDBERG, R. M., ARMSTRONG, D. K., BEVER, K. M., FADER, A. N., TAUBE, J., HOUSSEAU, F., SPETZLER, D., XIAO, N., PARDOLL, D. M., PAPADOPOULOS, N., KINZLER, K. W., ESHLEMAN, J. R., VOGELSTEIN, B., ANDERS, R. A. & DIAZ, L. A., JR. 2017. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*, 357, 409-413.
- LENER, M. R., SCOTT, R. J., KLUZNIAK, W., BASZUK, P., CYBULSKI, C., WIECHOWSKA-KOZLOWSKA, A., HUZARSKI, T., BYRSKI, T., KLADNY, J., PIETRZAK, S., SOLUCH, A., JAKUBOWSKA, A. & LUBINSKI, J. 2016. Do founder mutations characteristic of some cancer sites also predispose to pancreatic cancer? *Int J Cancer*, 139, 601-6.

- LEON-CASTILLO, A., BRITTON, H., MCCONECHY, M. K., MCALPINE, J. N., NOUT, R., KOMMOSS, S., BRUCKER, S. Y., CARLSON, J. W., EPSTEIN, E., RAU, T. T., BOSSE, T., CHURCH, D. N. & GILKS, C. B. 2020. Interpretation of somatic POLE mutations in endometrial carcinoma. *J Pathol*, 250, 323-335.
- LEVINE, M. D., PEARLMAN, R., HAMPEL, H., COSGROVE, C., COHN, D., CHASSEN, A., SUAREZ, A., BARRINGTON, D. A., MCELROY, J. P., WAGGONER, S., NAKAYAMA, J., BILLINGSLEY, C., RESNICK, K., ANDREWS, S., SINGH, S., JENISON, E., CLEMENTS, A., NEFF, R., GOODFELLOW, P. J., OHIO, P. & TREATMENT OF ENDOMETRIAL CANCER INITIATIVE STUDY, G. 2021. Up-Front Multigene Panel Testing for Cancer Susceptibility in Patients With Newly Diagnosed Endometrial Cancer: A Multicenter Prospective Study. *JCO Precis Oncol*, 5, 1588-1602.
- 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. 2020. Multigene Panel Germline Testing of 1333 Czech Patients with Ovarian Cancer. *Cancers (Basel)*, 12, 956.
- LONG, B., LILYQUIST, J., WEAVER, A., HU, C., GNANAOLIVU, R., LEE, K. Y., HART, S. N., POLLEY, E. C., BAKKUM-GAMEZ, J. N., COUCH, F. J. & DOWDY, S. C. 2019. Cancer susceptibility gene mutations in type I and II endometrial cancer. *Gynecol Oncol*, 152, 20-25.
- LOWERY, M. A., WONG, W., JORDAN, E. J., LEE, J. W., KEMEL, Y., VIJAI, J., MANDELKER, D., ZEHIR, A., CAPANU, M., SALO-MULLEN, E., ARNOLD, A. G., YU, K. H., VARGHESE, A. M., KELSEN, D. P., BRENNER, R., KAUFMANN, E., RAVICHANDRAN, V., MUKHERJEE, S., BERGER, M. F., HYMAN, D. M., KLIMSTRA, D. S., ABOU-ALFA, G. K., TJAN, C., COVINGTON, C., MAYNARD, H., ALLEN, P. J., ASKAN, G., LEACH, S. D., IACOBUZIO-DONAHUE, C. A., ROBSON, M. E., OFFIT, K., STADLER, Z. K. & O'REILLY, E. M. 2018. Prospective Evaluation of Germline Alterations in Patients With Exocrine Pancreatic Neoplasms. *J Natl Cancer Inst*, 110, 1067-1074.
- NOVOTNY, J., VITEK, P. & KLEIBL, Z. 2019. *Onkologie v klinické praxi*, Praha, Mladá fronta a.s.
- POHLREICH, P., ZIKAN, M., STRIBRNA, J., KLEIBL, Z., JANATOVA, M., KOTLAS, J., ZIDOVSKA, J., NOVOTNY, J., PETRUZELKA, L., SZABO, C. & MATOUS, B. 2005. High proportion of recurrent germline mutations in the BRCA1 gene in breast and ovarian cancer patients from the Prague area. *Breast Cancer Res*, 7, R728-36.
- RING, K. L., BRUEGL, A. S., ALLEN, B. A., ELKIN, E. P., SINGH, N., HARTMAN, A. R., DANIELS, M. S. & BROADDUS, R. R. 2016. Germline multi-gene hereditary cancer panel testing in an unselected endometrial cancer cohort. *Mod Pathol*, 29, 1381-1389.
- ROTHBLUM-OVIATT, C., WRIGHT, J., LEFTON-GREIF, M. A., MCGRATH-MORROW, S. A., CRAWFORD, T. O. & LEDERMAN, H. M. 2016. Ataxia telangiectasia: a review. *Orphanet J Rare Dis*, 11, 159.
- RUIJS, M. W., VERHOEF, S., ROOKUS, M. A., PRUNTEL, R., VAN DER HOUT, A. H., HOGERVORST, F. B., KLUIJT, I., SIJMONS, R. H., AALFS, C. M., WAGNER, A., AUSEMS, M. G., HOOGERBRUGGE, N., VAN ASPEREN, C. J., GOMEZ GARCIA, E. B., MEIJERS-HEIJBOER, H., TEN KATE, L. P., MENKO, F. H. & VAN 'T VEER, L. J. 2010. TP53 germline mutation testing in 180 families suspected of Li-Fraumeni syndrome: mutation detection rate and relative frequency of cancers in different familial phenotypes. *J Med Genet*, 47, 421-8.
- RUMP, A., BENET-PAGES, A., SCHUBERT, S., KUHLMANN, J. D., JANAVICIUS, R., MACHACKOVA, E., FORETOVA, L., KLEIBL, Z., LHOTA, F., ZEMANKOVA, P., BETCHEVA-KRAJCIR, E., MACKENROTH, L., HACKMANN, K., LEHMANN, J., NISSEN, A., DIDONATO, N., OPITZ, R., THIELE, H., KAST, K., WIMBERGER, P., HOLINSKI-FEDER, E., EMMERT, S., SCHROCK, E. & KLINK, B. 2016. Identification and Functional Testing of ERCC2 Mutations in a Multi-national Cohort of Patients with Familial Breast- and Ovarian Cancer. *PLoS Genet*, 12, e1006248.
- RYAN, N. A. J., MORRIS, J., GREEN, K., LALLOO, F., WOODWARD, E. R., HILL, J., CROSBIE, E. J. & EVANS, D. G. 2017. Association of Mismatch Repair Mutation With Age at Cancer Onset in Lynch Syndrome: Implications for Stratified Surveillance Strategies. *JAMA Oncol*, 3, 1702-1706.
- SALO-MULLEN, E. E., O'REILLY, E. M., KELSEN, D. P., ASHRAF, A. M., LOWERY, M. A., YU, K. H., REIDY, D. L., EPSTEIN, A. S., LINCOLN, A., SALLIA, A., JACOBS, L. M., RAU-MURTHY, R., ZHANG, L., KURTZ, R. C., SALTZ, L., OFFIT, K., ROBSON, M. E. & STADLER, Z. K. 2015. Identification of germline genetic mutations in patients with pancreatic cancer. *Cancer*, 121, 4382-8.
- SHINDO, K., YU, J., SUENAGA, M., FESHARAKIZADEH, S., CHO, C., MACGREGOR-DAS, A., SIDDIQUI, A., WITMER, P. D., TAMURA, K., SONG, T. J., NAVARRO ALMARIO, J. A., BRANT,

- A., BORGES, M., FORD, M., BARKLEY, T., HE, J., WEISS, M. J., WOLFGANG, C. L., ROBERTS, N. J., HRUBAN, R. H., KLEIN, A. P. & GOGGINS, M. 2017. Deleterious Germline Mutations in Patients With Apparently Sporadic Pancreatic Adenocarcinoma. *J Clin Oncol*, 35, 3382-3390.
- SCHUBERT, S., VAN LUTTIKHUIZEN, J. L., AUBER, B., SCHMIDT, G., HOFMANN, W., PENKERT, J., DAVENPORT, C. F., HILLE-BETZ, U., WENDEBURG, L., BUBLITZ, J., TAUSCHER, M., HACKMANN, K., SCHROCK, E., SCHOLZ, C., WALLASCHEK, H., SCHLEGELBERGER, B., ILLIG, T. & STEINEMANN, D. 2019. The identification of pathogenic variants in BRCA1/2 negative, high risk, hereditary breast and/or ovarian cancer patients: High frequency of FANCM pathogenic variants. *Int J Cancer*, 144, 2683-2694.
- SMITH, A. L., ALIREZAIE, N., CONNOR, A., CHAN-SENG-YUE, M., GRANT, R., SELANDER, I., BASCUNANA, C., BORGIDA, A., HALL, A., WHELAN, T., HOLTER, S., MCPHERSON, T., CLEARY, S., PETERSEN, G. M., OMEROGU, A., SALOUSTROS, E., MCPHERSON, J., STEIN, L. D., FOULKES, W. D., MAJEWSKI, J., GALLINGER, S. & ZOGOPOULOS, G. 2016. Candidate DNA repair susceptibility genes identified by exome sequencing in high-risk pancreatic cancer. *Cancer Lett*, 370, 302-12.
- SPURDLE, A. B., BOWMAN, M. A., SHAMSANI, J. & KIRK, J. 2017. Endometrial cancer gene panels: clinical diagnostic vs research germline DNA testing. *Mod Pathol*, 30, 1048-1068.
- 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., DUNDR, P., FORETOVA, L., MACUREK, L., KLEIBLOVA, P. & KLEIBL, Z. 2020a. Identification of Germline Mutations in Melanoma Patients with Early Onset, Double Primary Tumors, or Family Cancer History by NGS Analysis of 217 Genes. *Biomedicines*, 8, 404.
- STOLAROVA, L., KLEIBLOVA, P., JANATOVA, M., SOUKUPOVA, J., ZEMANKOVA, P., MACUREK, L. & KLEIBL, Z. 2020b. CHEK2 Germline Variants in Cancer Predisposition: Stalemate Rather than Checkmate. *Cells*, 9, 2675.
- TIAN, W., BI, R., REN, Y., HE, H., SHI, S., SHAN, B., YANG, W., WANG, Q. & WANG, H. 2019. Screening for hereditary cancers in patients with endometrial cancer reveals a high frequency of germline mutations in cancer predisposition genes. *Int J Cancer*, 145, 1290-1298.
- VIETRI, M. T., DELIA, G., CALIENDO, G., CASAMASSIMI, A., FEDERICO, A., PASSARIELLO, L., CIOFFI, M. & MOLINARI, A. M. 2021. Prevalence of mutations in BRCA and MMR genes in patients affected with hereditary endometrial cancer. *Med Oncol*, 38, 13.
- WIEME, G., KRAL, J., ROSSEEL, T., ZEMANKOVA, P., PARTON, B., VOCKA, M., VAN HEETVELDE, M., KLEIBLOVA, P., BLAUMEISER, B., SOUKUPOVA, J., VAN DEN ENDE, J., NEHASIL, P., TEJPAR, S., BORECKA, M., GOMEZ GARCIA, E. B., BLOK, M. J., SAFARIKOVA, M., KALOUSOVA, M., GEBOES, K., DE PUTTER, R., POPPE, B., DE LEENEER, K., KLEIBL, Z., JANATOVA, M. & CLAES, K. B. M. 2021. Prevalence of Germline Pathogenic Variants in Cancer Predisposing Genes in Czech and Belgian Pancreatic Cancer Patients. *Cancers (Basel)*, 13, 4430.
- WRIGHT, W. D., SHAH, S. S. & HEYER, W. D. 2018. Homologous recombination and the repair of DNA double-strand breaks. *J Biol Chem*, 293, 10524-10535.
- YADAV, S., KASI, P. M., BAMLET, W. R., HO, T. P., POLLEY, E. C., HU, C., HART, S. N., RABE, K. G., BODDICKER, N. J., GNANAOLIVU, R. D., LEE, K. Y., LINDSTROM, T. H., PETERSEN, G. M., COUCH, F. J. & MCWILLIAMS, R. R. 2020. Effect of Germline Mutations in Homologous Recombination Repair Genes on Overall Survival of Patients with Pancreatic Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 26, 6505-6512.
- YANG, X., LESLIE, G., DOROSZUK, A., SCHNEIDER, S., ALLEN, J., DECKER, B., DUNNING, A. M., REDMAN, J., SCARTH, J., PLASKOCINSKA, I., LUCCARINI, C., SHAH, M., POOLEY, K., DORLING, L., LEE, A., ADANK, M. A., ADLARD, J., AITOMAKI, K., ANDRULIS, I. L., ANG, P., BARWELL, J., BERNSTEIN, J. L., BOBOLIS, K., BORG, A., BLOMQVIST, C., CLAES, K. B. M., CONCANNON, P., CUGGIA, A., CULVER, J. O., DAMIOLA, F., DE PAUW, A., DIEZ, O., DOLINSKY, J. S., DOMCHEK, S. M., ENGEL, C., EVANS, D. G., FOSTIRA, F., GARBER, J., GOLMARD, L., GOODE, E. L., GRUBER, S. B., HAHNEN, E., HAKE, C., HEIKKINEN, T., HURLEY, J. E., JANAVICIUS, R., KLEIBL, Z., KLEIBLOVA, P., KONSTANTOPOULOU, I., KVIST, A., LADUCA, H., LEE, A. S. G., LESUEUR, F., MAHER, E. R., MANNERMAA, A., MANOUKIAN, S., MCFARLAND, R., MCKINNON, W., MEINDL, A., METCALFE, K., MOHD TAIB, N. A., MOILANEN, J., NATHANSON, K. L., NEUHAUSEN, S., NG, P. S., NGUYEN-DUMONT, T., NIELSEN, S. M., OBERMAIR, F., OFFIT, K., OLOPADE, O. I., OTTINI, L., PENKERT, J., PYLKAS, K., RADICE, P., RAMUS, S. J., RUDAITIS, V., SIDE, L., SILVA-SMITH, R., SILVESTRI, V., SKYTTE, A. B., SLAVIN, T., SOUKUPOVA, J., TONDINI, C., TRAINER, A. H., UNZEITIG, G., USHA, L., VAN OVEREEM HANSEN, T., WHITWORTH, J., WOOD, M., YIP, C. H., YOON, S. Y., YUSSUF, A., ZOGOPOULOS, G., GOLDFAR, D., HOPPER, J. L.,

- CHENEVIX-TRENCH, G., PHAROAH, P., GEORGE, S. H. L., BALMANA, J., HOUDAYER, C., et al. 2020. Cancer Risks Associated With Germline PALB2 Pathogenic Variants: An International Study of 524 Families. *J Clin Oncol*, 38, 674-685.
- YEN, T. T., WANG, T. L., FADER, A. N., SHIH, I. M. & GAILLARD, S. 2020. Molecular Classification and Emerging Targeted Therapy in Endometrial Cancer. *Int J Gynecol Pathol*, 39, 26-35.
- YURGELUN, M. B., CHITTENDEN, A. B., MORALES-OYARVIDE, V., RUBINSON, D. A., DUNNE, R. F., KOZAK, M. M., QIAN, Z. R., WELCH, M. W., BRAIS, L. K., DA SILVA, A., BUI, J. L., YUAN, C., LI, T., LI, W., MASUDA, A., GU, M., BULLOCK, A. J., CHANG, D. T., CLANCY, T. E., LINEHAN, D. C., FINDEIS-HOSEY, J. J., DOYLE, L. A., THORNER, A. R., DUCAR, M. D., WOLLISON, B. M., KHALAF, N., PEREZ, K., SYNGAL, S., AGUIRRE, A. J., HAHN, W. C., MEYERSON, M. L., FUCHS, C. S., OGINO, S., HORNICK, J. L., HEZEL, A. F., KOONG, A. C., NOWAK, J. A. & WOLPIN, B. M. 2019. Germline cancer susceptibility gene variants, somatic second hits, and survival outcomes in patients with resected pancreatic cancer. *Genet Med*, 21, 213-223.
- ZHAN, W., SHELTON, C. A., GREER, P. J., BRAND, R. E. & WHITCOMB, D. C. 2018. Germline Variants and Risk for Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Emerging Concepts. *Pancreas*, 47, 924-936.

Seznam publikací:

1. publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace

a) Publikace s IF

Wieme G, Kral J, Rosseel T, Zemankova P, Parton B, Vocka M, Van Heetvelde M, Kleiblova P, Blaumeiser B, Soukupova J, van den Ende J, Nehasil P, Tejpar S, Borecka M, Gómez García EB, Blok MJ, Safarikova M, Kalousova M, Geboes K, De Putter R, Poppe B, De Leeneer K, Kleibl Z, Janatova M, Claes KBM. **Prevalence of Germline Pathogenic Variants in Cancer Predisposing Genes in Czech and Belgian Pancreatic Cancer Patients.** *Cancers (Basel)*. 2021 Sep 2;13(17):4430. doi: 10.3390/cancers13174430. PMID: 34503238; PMCID: PMC8431631. (IF = 6,6)

b) Publikace bez IF

Manuskript v submisi:

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 Czech patients with endometrial cancer.**

2. publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertace

a) Publikace s IF

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 = 6,6)

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 = 6,6)

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 = 4,8)