

**UNIVERZITA KARLOVA
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



HABILITAČNÍ PRÁCE

**Analýza prognostických znaků u pacientů s vybranými
nádorovými onemocněními**

MUDr. Michal Vočka, Ph.D.

Praha 2022

OBSAH

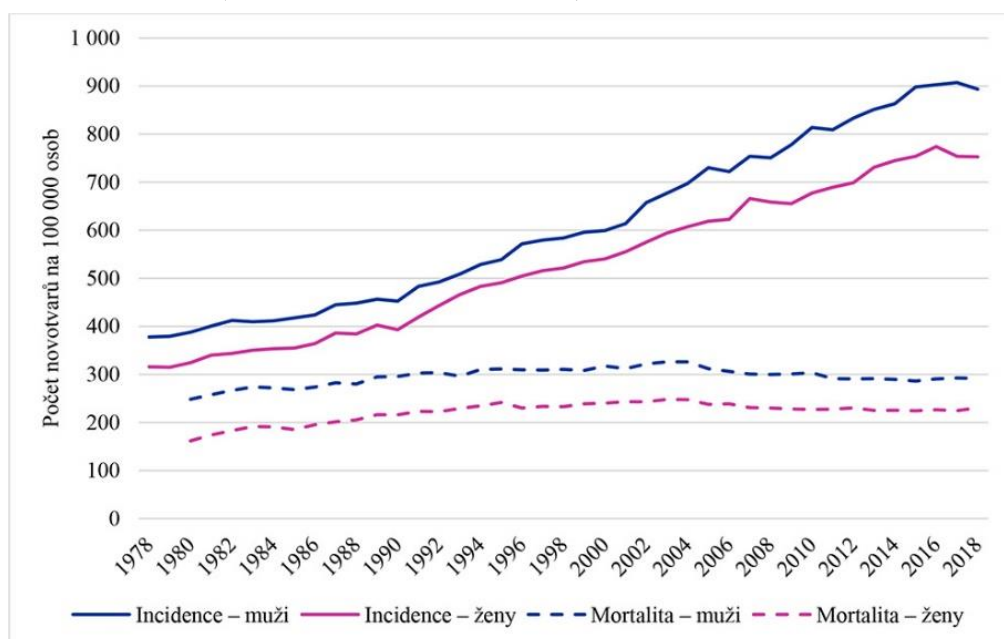
1	Úvod.....	5
2	Cíle práce.....	10
3	Výsledky a diskuze.....	12
3.1	Dědičná nádorová predispozice.....	12
3.2	Diagnostika časných stádií	24
3.3	Individualizace léčby časných a pokročilých stádií	29
4	Závěr.....	42
5	Poděkování	45
6	Seznam příloh.....	46
7	Seznam zkratk	50
8	Literatura	53
9	Přílohy – vybrané publikované práce <i>in extenso</i>	61

1 ÚVOD

Nádorová onemocnění představují druhou nejčastější příčinou úmrtnosti v České republice (ČR). Každoročně umírá v souvislosti s nádorovým onemocněním více než 27 tisíc osob (23 % z celkové úmrtnosti). Nádorová onemocnění představují druhou nejzávažnější příčinou celkové nemocnosti.

Incidence zhoubných novotvarů setrvale roste (obrázek 1). V roce 2018 bylo v ČR nově diagnostikováno 87 361 onemocnění, což je 822,1 na 100 000 osob (včetně nemelanomových kožních novotvarů). Je nutno zdůraznit, že od roku 1977, kdy bylo zahájeno systematické sledování, vzrostla incidence na více než dvojnásobek.

Obrázek 1: Vývoj incidence a mortality zhoubných novotvarů (C00–C97) dle pohlaví, přepočten na 100 000 osob. (ÚZIS; data získaná 1.12.2022)



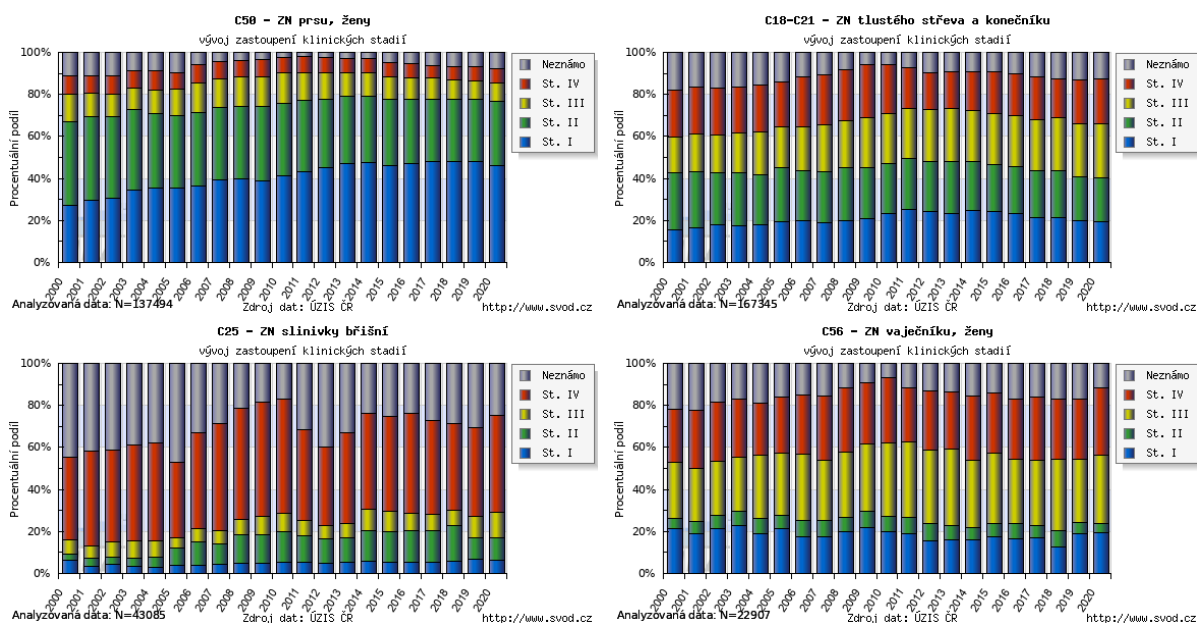
Mezi nejčastější nádorová onemocnění (pomineme-li nemelanomové kožní novotvary) patřily v roce 2018 (ÚZIS; data získaná 1.12.2022) u žen karcinom prsu (26,5 % všech nových nádorových onemocnění u žen; 7200 případů) a u mužů karcinom prostaty (25,0 % všech nových nádorových onemocnění u mužů; 7900 případů), dále pak karcinomy tlustého střeva a konečníku (12,4 %; 7700 případů) a karcinomy plic (11,0 %; 6600 případů).

Přestože mortalita zhoubných nádorových onemocnění v posledních letech stagnuje (obrázek 1), umírá na nádorová onemocnění ročně 27 699 osob (za rok 2018). Nejčastější příčinou úmrtí na nádorová onemocnění v roce 2018 byla nádorová onemocnění průdušnice,

průdušky a plíce (19,2 % všech úmrtí na rakovinu). Na druhém místě figurovala nádorová onemocnění tlustého střeva a konečníku, jež zapříčinila 12,2 % všech úmrtí na nádorová onemocnění. Třetí nejčastější malignitu představovala pohlavně specifická onkologická onemocnění – karcinom prsu u žen a karcinom prostaty u mužů, která tvořila 13,1 a 9,1 % všech úmrtí na nádorová onemocnění. Čtvrtou hlavní příčinou úmrtí na nádorová onemocnění pak byla nádorová onemocnění slinivky břišní zahrnující 7,8 % všech úmrtí na nádorová onemocnění (pokud se však týká incidence, představují nádorová onemocnění slinivky břišní pouze 3,6 % z celkového počtu všech diagnostikovaných onkologických onemocnění).

Zatímco u karcinomu prsu pozorujeme příznivý trend zvyšujícího se podílu pacientek diagnostikovaných v časném klinickém stádiu, u pacientů s karcinomem slinivky břišní tomu tak bohužel není. V roce 2000 tvořily pacientky s karcinomem prsu ve stádiu I a II celkem 62,0 %, v roce 2010 pak 71,1 % a v roce 2020 dokonce 77,6 %. V ostrém kontrastu je podíl pacientů ve stádiu I a II u karcinomu pankreatu (primárně resekalibilní onemocnění), kteří v roce 2000 tvořili pouhých 9,3 %, v roce 2010 pak 19,7 % a v roce 2020 jen 17,1 %. U pacientek s karcinomem vaječníku bylo ve stádiu I a II v roce 2000 diagnostikováno 26,1 % pacientek, v roce 2010 27,1 % pacientek a v roce 2020 23,9 % pacientek; u pacientů s karcinomem tlustého střeva a konečníku pak 42,6 % v roce 2000, 47,3 % v roce 2010 a 46,5 % v roce 2020 (obrázek 2). (www.SVOD.cz; data získaná 01.12.2022)

Obrázek 2: Časový vývoj zastoupení jednotlivých klinických stádií karcinomu prsu u žen (A), karcinom tlustého střeva a konečníku (B), karcinom slinivky břišní (C) a karcinom vaječníku (D) v ČR. (www.SVOD.cz; data získaná 01.12.2022)



Uvedené údaje z posledních dvou dekad jasně ukazují, že u nejčtenějších nádorových onemocnění došlo k významnějšímu posunu směrem k časnějším stádiím pouze v případě karcinomu prsu. Podíl resektabilních stádií karcinomu pankreatu se sice numericky zdvojnásobil, ale stále představují pouze minoritní část pacientů a dlouhodobé výsledky terapie tohoto onemocnění zůstávají velmi nepříznivé. Časná stádia u karcinomů tlustého střeva a rekta, stejně jako karcinomů ovaria a tuby, oscilují kolem obdobných hodnot.

Jak je uvedeno v předchozím textu, incidence nádorových onemocnění v posledních desítkách let stoupá. Ovlivnění tohoto trendu je mimořádně obtížné, a proto se zdravotnický systém zaměřuje spíše na snížení mortality nádorových onemocnění. Jednou z nejúčinnějších a zároveň nejlevnějších možností snížení mortality je včasný záchyt s možností kurabilního řešení. S tímto cílem byl v roce 2002 zahájen mamografický skrínig, který měl v následujících letech za následek postupné zvýšení procenta pacientek ve stádiu I, tedy drobné tumory bez metastatického postižení lymfatických uzlin (LU) nebo s mikrometastázou v LU, jež jsou z větší části kurabilní. (Májek O. et al, 2011; Ondrusova M. et al, 2012) Následně byl v roce 2008 zahájen skrínig karcinomu děložního čípku a v roce 2009 skrínig karcinomu tlustého střeva a konečníku. Zavedení skrínigu tlustého střeva a konečníku nevedlo zatím k výraznému vzestupu procentuálního zastoupení stádií I a II, nicméně v souvislosti s možností odstranění prekurzorových lézí při kolonoskopii došlo k mírnému poklesu celkového počtu pacientů s touto diagnózou. (Suchánek S. et al, 2014; Král J. et al, 2020) Pro úplnost je nutno dodat, že v současné době probíhá v ČR pilotní skrínigový program zaměřený na pacienty s vysokým rizikem karcinomu plic a připravuje se skrínigový program pro časnou detekci karcinomů prostaty.

Pro řadu nádorových onemocnění bohužel plošný skrínig neexistuje, jejich diagnostika i terapie jsou mimořádně obtížné a výsledky léčby přinejmenším neuspokojivé. V relativní incidenci karcinomu pankreatu se Česká republika celosvětově řadí na přední pozice a v posledních letech zaznamenáváme navíc vzestupnou tendenci (www.SVOD.cz; data získaná 01.12.2022). Jedinou skutečně účinnou možností terapie je chirurgické řešení lokalizovaného onemocnění bez postižení lymfatických uzlin nebo bez kontaktu s cévami. Bohužel v tomto stádiu onemocnění jsou pacienti diagnostikováni pouze ve velmi nízkém procentu (Benzel J., Fendrich V., 2018), zejména z důvodu pozdních symptomů a obtížné diagnostiky, která se musí opírat o magnetickou rezonanci nebo endoskopické ultrazvukové vyšetření. Na vzniku přibližně 6-9 % všech adenokarcinomů pankreatu se podílejí hereditární nádorové syndromy, jež vznikají u pacientů se zárodečnými mutacemi genů zahrnujících *BRCA2*, *PALB2*, *CDKN2A*, *BRCA1*,

MLH1, MSH2, MSH6, ATM, PRSS1, STK11. (Llach J. et al, 2020; Goggins M. et al, 2020) Právě tato jasně definovaná riziková skupina zdravých nosičů by měla být předmětem podrobného skríningu s cílem zachytit co nejčasnější stádium onemocnění vznikajícího s významně (i řádově!) vyšší pravděpodobností, než je tomu u obecné populace.

Podobně karcinomy ovaria a tuby jsou nezřídka diagnostikovány ve fázi pokročilého onemocnění. I přes dobrou odpověď na terapii často opakovaně recidivují a vedou k úmrtí pacientky. Dědičná dispozice se u karcinomů ovaria a tuby pohybuje v naší populaci až okolo 30 % (Walsh T. et al, 2011; Koczkowska, M. et al, 2018; Krivokuca A. et al, 2019) a podílí se na ní nosičky zárodečných patogenních variant v genech *BRCA1* a *BRCA2*, méně často pak v dalších predispozičních genech (*BRIP1, RAD51C, RAD51D, MLH1, MSH2, STK11, ATM, BARD1, CDH1, CHEK2, NBN, PALB2, PTEN, TP53*). (Lilyquist J. et al, 2017; Carter N.J. et al, 2018; Daly M.B. et al, 2021) Je třeba zdůraznit, že velká část těchto gynekologických karcinomů je dobře preventabilních, tedy při znalosti celoživotního rizika (ať už empirického nebo na základě přítomné patogenní mutace v predispozičním genu) lze provedením preventivní salpingoophorectomie ve vhodném věku dosáhnout radikálního snížení rizika vzniku nádorového onemocnění. (Domchek S.M. et al, 2006)

Výsledky onkologické léčby zůstávají neuspokojivé i přes neustálý pokrok ve všech modalitách protinádorové terapie. Jedním z klíčových momentů může být i změna koncepčního cíle u obtížně léčitelných nádorových onemocnění, kde před úplným vyléčením by bylo namíste upřednostnit postupné překonávání relapsů chronického onemocnění a prodlužování časů do progresu/relapsu. To vyžaduje nejen disponovat rozsáhlými farmakologickými možnostmi, ale i stanovit jednoznačná diagnostická kritéria pro aplikaci nejvhodnějšího postupu léčby v daném čase u konkrétního pacienta a mít tak možnost cílit terapii na přítomné molekulární cíle nezávisle na konkrétní diagnóze spíše než indikovat plošnou terapii toliko dle stádia onemocnění a lokalizace primárního tumoru. Proto kruciólní moment moderní precizní onkologie představuje identifikace pacientů profitujících ze zajišťovací adjuvantní terapie, jež sice může vést ke snížení rizika návratu nemoci, ovšem zároveň může mít za následek závažné nežádoucí účinky včetně úmrtí. I zde bychom tedy měli mimo jiné vycházet z molekulárních a imunologických markerů spíše než z prostého rozsahu onemocnění, který zdaleka nemusí odpovídat biologickému chování nádorového onemocnění a souviset, poněkud zjednodušeně řečeno, jen s délkou přítomnosti onemocnění v organismu. Za příklad mohou posloužit pacienti s kolorektálním karcinomem stádia III, kdy je prokázáno, že 30 % pacientů recidivuje navzdory adjuvantní chemoterapii (Auclin E. et al, 2017), její podání je v jejich

případě nadbytečné a možná by profitovali z jiného typu terapie (například imunoterapie) nebo by neprofitovali z terapie vůbec a pak nedává smysl vystavovat je nežádoucím účinkům léčby.

Naprostě shodné otázky si klademe při volbě strategie léčby u lokálně velmi pokročilých nebo metastatických nádorových onemocnění, kde by kromě celkového stavu pacienta rozhodující roli ve volbě léčebné strategie měly hrát prognostické a prediktivní markery, jejichž pomocí by měla být terapie individualizována na míru konkrétnímu pacientovi s cílem dosáhnout kurability nebo maximálního prodloužení celkového přežití při zachování dobré kvality života. Ukazuje se, že pro nalezení vhodných molekulárních nebo imunologických cílů nehraje tak významnou roli rozsah onemocnění a že dlouhodobých remisí lze dosáhnout i u pacientů s rozsahem onemocnění považovaném ještě před několika lety za nevléčitelné s velmi krátkým předpokládaným přežitím.

Moderní onkologie tak stojí před řadou náročných výzev a právě pochopení nádorové biologie, identifikace hereditárních rizik a individualizace prevence, nalezení nových skriningových metod a markerů, rozšíření palety možných molekulárních cílů a zkoumání mechanismů primární nebo sekundární resistance na terapii, je spolu s rozšířením léčebného armamentária o nové léčebné modalitty cestou k výraznému zlepšení výsledků onkologické terapie.

Tato práce navazuje na předchozí disertační práci autora „Analýza prognostických znaků u pacientů s karcinomem prsu a kolorektálním karcinomem“ (Praha, 2019).

2 CÍLE PRÁCE

Precizní onkologie si klade za cíl dosáhnout lepších výsledků léčby pomocí aplikace prognostických a prediktivních markerů umožňujících individualizaci přístupů k prevenci, diagnostice a terapii nádorových onemocnění. Vybranými aspekty individualizace protinádorové léčby se zabývá předkládaná práce, která se zaměřila na řešení dílčích úkolů v následujících třech klíčových oblastech:

Dědičná nádorová predispozice

Zvláštní skupinou nemocných tvoří pacienti s dědičnými nádorovými syndromy. Systematické péči o tyto pacienty se na Onkologické klinice 1. LF UK a VFN věnujeme dlouhodobě. Analýza predispozičních genů a s nimi souvisejících rizik vzniku nádorového onemocnění umožňuje zavést individuální skrínigový program, indikovat preventivní výkony a časně detekovat nádorová onemocnění u extrémně rizikových osob. (Lhota F. et al, 2016; Soukupová J. et al, 2018; Borecká M. et al, 2016; Borecká M. et al, 2016; Kleiblová P. et al, 2019; Lhotová K et al, 2020; Wieme G. et al, 2021) Jedná se (v některých případech) o jediná preventabilní onkologická onemocnění. Význam identifikace dědičné nádorové predispozice se dlouhodobě posouvá z roviny ryze prognostické do roviny prediktivní, neboť přítomnost germinální varianty podstatně určuje biologické chování, a tím i klinický projev onemocnění (Vočka M. et al, 2019; Wieme G. et al, 2021). Zároveň má přítomnost určitých zárodečných mutací řadu terapeutických konsekvencí. U pacientů s patogenními mutacemi genů homologní rekombinace je pozorována lepší odpověď na terapii platinovými deriváty a současně lze u nich podáním PARP inhibitorů v udržovací terapii dosáhnout výrazného prodloužení času do relapsu/progrese onemocnění. U pacientů s prokázaným defektem oprav chybného párování bází (*mismatch repair*) je pak indikováno podání inhibitorů kontrolních bodů, jež má až ohromující terapeutické výsledky. Přítomnost prognostických molekulárních markerů u pacientek s karcinomem dělohy (včetně mutace v genu *POLE*) potom rozhoduje o podání adjuvantní terapie.

Diagnostika časných stádií

Základem úspěšnosti protinádorové léčby je stále časná detekce, která umožní spolehlivě identifikovat přítomnost nádorového ložiska v době, kdy obsahuje terapeuticky (a imunitně) „zvladatelný“ počet transformovaných nádorových buněk. Pro časnou detekci zvažujeme nové

metody a biomarkery, jež by byly spolehlivé a dostatečně senzitivní a jež nám umožní zasáhnout včas v době prekancerózy či v nízkém stádiu onemocnění (Miškovičová M. et al, 2020; Hrabák P. et al, 2022). Spektroskopické metody představují jednu z metod, které dokáží s velkou přesností detektovat rozdíly v plazmě pacientů s karcinomem tlustého střeva, a to včetně odlišení stádia onemocnění (Miškovičová M. et al, 2020). Zároveň se zdá, že je těchto metod možné využít v průběhu kolonoskopického vyšetření k rozlišení adenomů s různým stupněm dysplázie, tumorů *in situ* a maligních lézí v reálném čase a tím potenciálně urychlit diagnostický proces. (AZV NU20-09-00229)

Snad ještě podstatnější roli hraje časná diagnostika u pacientů s karcinomem pankreatu. U pacientů s časnými stádii karcinomu pankreatu byly analyzovány hladiny sérových markerů použitelných pro identifikaci potenciálně kurabilních pacientů. (Hrabák P. et al, 2022)

Individualizace léčby časných a pokročilých stádií

Navzdory veškerým pokrokům v diagnostice zůstává procento pokročilých onemocnění v případě karcinomu tlustého střeva i karcinom pankreatu stále poměrně vysoké. U řady pacientů je třeba individualizovat terapeutický přístup a zvažovat přínos a současně rizika adjuvantní terapie nejen na základě stádia, ale i dle biologického chování nádorového onemocnění. V současné době víme, že u určitého procenta pacientů daného stádia dochází k recidivám onemocnění i v případě podání zajišťovací terapie a část pacientů je tak pravděpodobně léčena zbytečně. Prozatím nicméně nelze jednoznačně určit, který pacient bude z konkrétní terapie profitovat. Jednou z potenciálních možností fundovanějšího odhadu rizika recidivy je vyšetření tumor infiltruujících lymfocytů a jejich jednotlivých subtypů. Ve snaze o zavedení jednotné kvantifikace vzniklo konsorcium Immunoscore, na němž participujeme. V rámci spolupráce s univerzitním pracovištěm v Erlangenu měl autor této práce možnost vyhodnotit Immunoscore u 250 vzorků pacientů ze Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. (Pages F. et al, 2018, Mlecnik B. et al, 2020, Mlecnik B. et al, 2022)

Při rozhodování o léčebném postupu u pacientů s generalizovaným nádorovým onemocněním je důležité identifikovat pacienty, kteří budou z intenzivní terapie profitovat a u nichž jsme za určitých podmínek schopni dosáhnout úplného vyléčení. S cílem zjistit potenciální využití v diagnostice, ke zjištění rozsahu nádorového onemocnění a vztahu vstupní hodnoty k celkovému přežití pacientů jsme analyzovali řadu sérových markerů. (Vočka M. et al, 2015; Vočka M. et al, 2018; Vočka M. et al, 2019; Vočka M. et al, 2019)

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Dědičná nádorová predispozice

Hereditární nádorové syndromy představují skupinu nádorových onemocnění, u kterých lze vysledovat jasný podíl dědičnosti na jejich vzniku. Tato skupina představuje přibližně 5 % všech nádorových onemocnění, avšak u některých nádorových diagnóz může být podíl hereditární formy onemocnění výrazně vyšší (např. až 30 % u karcinomů ovaria). Analýza predispozičních genů umožňuje identifikaci osob s celoživotně zvýšeným rizikem nádorových onemocnění, z nichž některá lze významně snížit (pomocí preventivních chirurgických výkonů či chemoprolaxe) nebo je možné s pomocí individuální skriningových programů dosáhnout časně detekce nádorového onemocnění s vysokou šancí na úspěšnou léčbu.

Mutační analýzu nádorové dispozice ke vzniku dědičné formy karcinomu prsu a ovaria zavedl Doc. MUDr. Petr Pohlreich, CSc., na Ústavu biochemie a experimentální onkologie 1. LF UK ve spolupráci s Onkologickou klinikou Všeobecné fakultní nemocnice v roce 1997. Testování v tehdy nově zřízené Laboratoři onkogenetiky zahrnovalo zpočátku pouze analýzy hlavních predispozičních genů *BRCA1* a *BRCA2* s cílem nalézt alterace vedoucí k posunu čtecího rámce a s tím spojeným vznikem předčasně terminovaného proteinového produktu, které tvoří převážnou většinu patogenních mutací ve zmiňovaných genech (Pohlreich P. et al, 2003; Pohlreich P. et al, 2005). Následně byly do vyšetření doplněny též analýzy velkých přestaveb (výpadků/duplikací postihujících i několik exonů) vyšetřovaných genů (Zikán M. et al 2008; Tichá I. et al, 2009).

Na začátku milénia pak vznikla na Onkologické klinice 1. LF UK a VFN dispenzární ambulance, jež doposud zastřešuje preventivní péči a dispenzarizaci u vysoce rizikových nosičů hereditárních mutací.

V průběhu dalších let došlo k postupnému rozšíření počtu vyšetřovaných genů, zpřesnění doporučení pro sledování a rozšíření kritérií pro indikaci genetického testování. Revoluci v diagnostickém procesu přinesla aplikace sekvenování nové generace (NGS) na počátku druhého desetiletí. V souvislosti se zvyšujícími se požadavky na množství mutačních analýz postupně všechna pracoviště přešla na panelové sekvenování, které umožňuje analýzy stovek genů u desítek až stovek pacientů současně.

Hereditary truncating mutations of DNA repair and other genes in *BRCA1/BRCA2/PALB2*-negatively tested breast cancer patients.

Clin Genet. 2016;90(4):324-33.

Lhota F., Zemankova P., Kleiblova P., Soukupova J., Vocka M., Stranecky V., Janatova M., Hartmannova H., Hodanova K., Kmoch S., Kleibl Z.

Metody NGS významně zrychlily a rozšířily možnosti vyšetřování dědičných alterací známých a kandidátních nádorových predispozičních genů. Pro tuto analýzu bylo vybráno 325 vysoce rizikových pacientů s karcinomem prsu, u kterých byla vyloučena mutace v hlavních predispozičních genech *BRCA1/BRCA2/PALB2*, a 105 nenádorových kontrol, jež splňovaly indikační kritéria pro analýzu nádorové predispozice. U vyšetřovaných osob byla provedena analýza dědičných variant 581 genů na platformě SOLiD.

V celém souboru byla u 108 pacientů (32,3 %) identifikována alespoň 1 trunkační varianta (vedoucí k posunu čtecího rámce a předčasného ukončení proteinového produktu), z nichž 36 variant se nacházelo v genech účastnících se oprav poškozené genomové DNA. Nejčastěji se vyskytujícími alteracemi byly změny v genech kódujících proteiny Fanconiho anemie, rozsáhlého reparačního komplexu oprav meziřetězcových spojení DNA, který zahrnuje i všechny hlavní predispoziční geny karcinomu prsu – *BRCA1*, *BRCA2* a *PALB2*. Mezi nejčastější varianty mimo geny účastnící se reparace DNA patřily geny kódující proteiny účastnící se metabolismu a signalizace steroidních hormonů (15 variant), především pak geny pro cytochromy p450, jež přispívají k biosyntéze estrogenů (*CYP11A1*, *CYP17A1*, *CYP19A1*) nebo jejich katabolismu (*CYP3A5*, *CYP1A2*). Vzhledem k tomu, že estrogény mohou ovlivnit etiologii karcinomu prsu, je možné o těchto variantách uvažovat jakožto o potenciálních modifikátorech rizika vzniku karcinomu prsu.

Práce ukázala, že panelové NGS je vhodným přístupem k analýze hereditární nádorové predispozice, umožňujícím v relativně krátkém čase získat výsledky analýzy několika stovek genů s možnou spojitostí se vznikem dědičného nádorového onemocnění. Patogenní či pravděpodobně patogenní mutace byly nalezeny u téměř třetiny vyšetřovaných vysoce rizikových osob, přičemž u 30 z 325 nemocných (9 %) jsme tyto mutace objevili v genech jasně asociovaných se známými dědičnými nádorovými syndromy.

Z pohledu klinické onkogenetiky však práce rovněž poukázala na zřejmé limitace zahrnující především široký rozsah panelu znemožňující určení klinického významu řady nalezených dědičných variant s ohledem na nádorovou predispozici.

Validation of CZE CANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) for targeted NGS-based analysis of hereditary cancer syndromes.

PLoS One. 2018;13(4):e0195761.

Soukupova J., Zemankova P., Lhotova K., Janatova M., Borecka M., Stolarova L., Lhota F., Foretova L., Machackova E., Stranecky V., Tavandzis S., Kleiblova P., **Vocka M.**, Hartmannova H., Hodanova K., Kmoch S., Kleibl Z.

Velikost panelu může být v mnoha ohledech omezující s velkými nároky na zpracování a zároveň může být spojena se získáním velkého množství často nevyužitelných dat. Z toho důvodu vznikl v roce 2015 panel CZE CANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) v. 1.0, který zahrnoval 219 genů s prokázaným nebo předpokládaným zvýšením rizika vzniku dědičných nádorových onemocnění s cílem racionalizovat velikost panelu. Byly do něj zařazeny geny tří skupin: skupina A – geny s prokázanou (nezpochybnitelnou) asociací s nádorovou hereditou se známým a významně zvýšeným relativním rizikem pro nosiče ($RR > 5$); skupina B – geny s prokázanou jasnou asociací s nádorovou hereditou (evidentní na základě několika publikovaných studií) a významně zvýšeným relativním rizikem pro nosiče ($RR 2-5$) nebo v případě, že RR není stanoveno pro nedostatek studií; a skupina C – geny s nejasnou, avšak předpokládanou asociací s nádorovými hereditami. (Soukupová J. et al, 2016) Před zavedením sekvenačního panelu CZE CANCA do rutinní diagnostiky bylo provedeno důkladné testování parametrů panelu na souboru 389 vzorků dříve analyzovaných na přítomnost zárodečných mutací v predispozičních genech, z toho u 137 vzorků byla prokázána přítomnost patogenní jednonukleotidové varianty (single nucleotide variants, SNVs) nebo krátkých insercí a delecí a u celkem 35 vzorků byla již dříve prokázána rozsáhlejší přestavba. Kvalitativní parametry a výsledky interních kontrol kvality byly doplněny o nezávislé hodnocení European Molecular Genetics Quality Network (www.emqn.org) s dosažením 100% senzitivity při detekci variant a také analýzou referenčních vzorků z Coriell Institute for Medical Research s dosažením senzitivity více než 98,6 %.

Výsledky potvrdily funkčnost panelu CZE CANCA umožňující spolehlivou detekci nejen SNV a malých insercí nebo delecí, ale také hodnocení rozsáhlejších přestaveb vyšetřovaných genů. Provedené analýzy též prokázaly vysokou uniformitu analýzy ze spolupracujících laboratoří CZE CANCA konsorcia, které umožňuje sloučení mezilaboratorních výsledků pro vytvoření frekvenční databáze hereditárních variant predispozičních genů u vysoce rizikových osob v ČR.

Mutation analysis of the *PALB2* gene in unselected pancreatic cancer patients in the Czech Republic.

Cancer Genet. 2016;209(5):199-204.

Borecka M., Zemankova P., **Vocka M.**, Soucek P., Soukupova J., Kleiblova P., Sevcik J., Kleibl Z., Janatova M.

Řada studií prokázala, že přibližně 10 % pacientů s adenokarcinomem pankreatu má prvostupňového příbuzného s tímtež onemocněním, a podíl dědičnosti na vzniku tohoto onemocnění je tedy zřejmý. (Maisonneuve P., Lowenfels A.B., 2010) Za hlavní predispoziční genetický faktor jsou považovány germinální alterace genu *BRCA2*, které se podílejí na vzniku až 6 % všech karcinomů pankreatu. Další významný predispoziční gen představuje *PALB2*, jehož patogenní mutace jsou spojovány se zvýšeným rizikem karcinomů prsu, méně pak s rizikem vzniku karcinomů vaječníku, pankreatu, prostaty, kolorektálním karcinomem a maligním melanomem. (Erkko H. et al, 2007; Aoude L.G. et al, 2014) Většina studií se zaměřila na charakterizaci dědičných mutací *PALB2* ve vysoce rizikových rodinách převážně s výskytem karcinomu prsu (u nás Janatova M. et al., 2013), avšak práce věnující se cíleně pacientům s karcinomem pankreatu chyběla.

V rámci analyzovaného souboru bylo testováno celkem 152 pacientů s adenokarcinomem pankreatu na přítomnost mutací v genu *PALB2* a výskyt nalezených germinálních variant u pacientů byl porovnáván s výskytem v kontrolní skupině 1226 zdravých osob. Trunkační varianty byly zachyceny u 3 pacientů (2 %) oproti jedné osobě v kontrolní skupině (0,08 %; $p = 0.005$). Rodinná anamnéza byla zcela negativní u jednoho z nosičů, u jednoho nesignifikantní (karcinom žaludku a tumor bez další specifikace) a u jednoho byl u prvostupňové příbuzné diagnostikován karcinom prsu v 53 letech.

Výsledky první analýzy mutací v genu *PALB2* u pacientů s karcinomem pankreatu v ČR prokázaly, že patogenní zárodečné mutace v tomto genu jsou spojeny se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu pankreatu v České republice. S ohledem na nezanedbatelný podíl nosičů příčinných alterací na vzniku tohoto onemocnění by měli být testováni všichni pacienti s karcinomem pankreatu nezávisle na rodinné anamnéze.

The c.657del5 variant in the *NBN* gene predisposes to pancreatic cancer.

Gene. 2016;587(2):169-72.

Borecka M., Zemankova P., Lhota F., Soukupova J., Kleiblova P., **Vocka M.**, Soucek P., Ticha I., Kleibl Z., Janatova M.

Gen *NBN* kóduje nibrin, protein podílející se na tvorbě multiproteinového komplexu MRN (MRE11-RAD50-NBN), který je iniciálním senzorem poškození DNA při opravě dvouřetězcových zlomů DNA (Carney J.P. et al., 1998). Heterozygotní mutace *NBN* predisponují k rakovině prsu (Gorski B. et al., 2003; Matějů M. et al., 2012). Nejčastější patogenní mutací v genu *NBN* je endemická slovanská mutace c.657_661del (označovaná také jako c.657del5), jejíž vysoká přítomnost ve středoevropských populacích včetně České republiky zapříčiňuje i celosvětově nejvyšší výskyt vzácného Nijmegen-breakage syndromu (syndromu Seemanové) způsobeného bialelním nosičstvím c.657_661del.

Při testování možnosti využití panelového sekvenování pro diagnostiku hereditárních nádorových syndromů (Lhota F, 2016), byla u pacienta s karcinomem pankreatu s bohatou rodinnou anamnézou nádorových onemocnění nalezena mutace c.657_661del v genu *NBN*. Následně byla analýza provedena na souboru 241 neselektovaných pacientů s karcinomem pankreatu. Nalezeno bylo celkem 5 nosičů patogenních variant (2,07 %) v genu *NBN* oproti dvěma záchytům v 915 zdravých kontrolách (0,22 %). Pozitivní rodinná anamnéza nebyla zjištěna u žádného z nosičů těchto variant.

Příklad genu *NBN* jasně ukazuje nutnost analýz v rámci jednotlivých populací, protože jeho výskyt v americké nebo západoevropské populaci se významně liší od výskytu v České republice či např. Polsku. Rozsáhlá německá analýza 5589 *BRCA1/BRCA2* negativních pacientek indikovaných ke genetickému testování zachytila patogenní mutace v genu *NBN* u 12 pacientek (0,21 %) oproti 65 nosičkám (0,17 %) ve 36 687 zdravých kontrolách. (Hauke J. et al, 2018). V kontrastu s tím bylo v české populaci zachyceno 41 patogenních mutací v 4832 případech karcinomu prsu (0,85 %) oproti 7 mutacím v souboru 2453 kontrol (0,29 %; OR 2,99; 95 % CI 1,34 to 6,67; $p = 0,008$. (nepublikovaná data CZECANCA konsorcia). Výsledky analýzy tak rovněž upozorňují na nezbytnost analýz nádorových fenotypů v populacích s výskytem zakladatelských (founder) variant.

Identification of deleterious germline *CHEK2* mutations and their association with breast and ovarian cancer.

Int J Cancer. 2019;145(7):1782-1797.

Kleiblova P., Stolarova L., Krizova K., Lhota F., Hojny J., Zemankova P., Havranek O., **Vocka M.**, Cerna M., Lhotova K., Borecka M., Janatova M., Soukupova J., Sevcik J., Zimovjanova M., Kotlas J., Panczak A., Vesela K., Cervenкова J., Schneiderova M., Burocziova M., Burdova K., Stranecky V., Foretova L., Machackova E., Tavandzis S., Kmoch S., Macurek L., Kleibl Z.

Gen *CHEK2* kóduje kinázu CHK2 zprostředkovávající odpověď na přítomnost dvouřetězcových zlomů v DNA. Zárodečné patogenní mutace v genu *CHEK2* jsou spojeny se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu, nicméně riziko vzniku onemocnění u nosiček mutací *CHEK2* bylo publikováno s velmi rozdílným vyzněním. (Young E.L. et al, 2016; Espenschied C. et al., 2017)

V analyzovaném souboru 1928 vysoce rizikových pacientů analyzovaných na nádorovou predispozici ke karcinomu prsu a ovaria bylo identifikováno 10 trunkačních mutací a 26 missense variant. Zatímco frekvence trunkačních mutací se významně lišila mezi souborem pacientů (2,39 % nosičů) a kontrol (0,33 % nosičů z 3360 nenádorových kontrol; $p = 1,1 \times 10^{-14}$), celková frekvence missense alterací byla srovnatelná (4,56 % vs. 3,90 %; $p=0,42$). U zmiňovaných 26 missense variant bylo provedeno funkční vyšetření ve spolupráci s Ústavem molekulární genetiky Akademie věd České republiky, které umožnilo vyhodnotit enzymovou aktivitu *CHEK2*. Z hlediska poruchy funkce bylo 11 variant hodnoceno jako varianty s významnou poruchou kinázové aktivity, 5 variant jako s částečnou poruchou funkce; 10 variant prokázalo zachování plné kinázové aktivity. Funkčně defektní missense varianty jsou pravděpodobně spojeny s nižším rizikem než trunkační mutace.

Varianty nejasného významu představují značnou část nalezených variant v rámci rutinních genetických vyšetření. Analýzy funkčního významu jednotlivých variant umožní klasifikovat nalezené VUS popsané CZECANCA konsorciem, což zvýší klinickou výpovědní hodnotu. Bohužel hodnocení významu u středně penetrantních genů je ztěžováno faktem, že patogenní mutace často asociují s jinými tumory než toliko s karcinomem prsu a vaječníků, a je tedy třeba v rámci mezinárodní spolupráce vytvořit dostatečně velké soubory pacientů spolu s podrobnými klinicko-patologickými informacemi.

Multigene Panel Germline Testing of 1333 Czech Patients with Ovarian Cancer.

Cancers. 2020;12(4):956.

Lhotova K., Stolarova L., Zemankova P., **Vočka 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., Hruskova L., Kosarova M., Vrtel R., Stranecky V., Kmoch S., Zikan M., Macurek L., Kleibl Z., Soukupova J.

Nádorová onemocnění ovaria a tuby (OC) představují heterogenní skupinu onemocnění, z nichž k nejčastějším patří serózní karcinom s nízkým stupněm diferenciaci. Jedná se o jeden z mála dobře preventabilních tumorů u pacientek s vysokým rizikem. Genetické testování usnadňuje léčbu a preventivní strategie snižují mortalitu OC u přenašečů mutace. Prevalence zárodečných mutací se však mezi populacemi liší a zbývá identifikovat mnoho vzácně mutovaných OC predispozičních genů.

V rámci analýzy 1333 pacientů s OC a 2278 kontrol panelem CZEKANCA byly zárodečné mutace identifikovány v 18 predispozičních genech u 32,0 % pacientů proti 2,5 % u kontrol ($p < 0.001$). Analýza zbývajících 201 genů odhalila somatické mozaiky v genu *PPM1D* a zárodečné mutace v *SHPRH* a *NAT1*, asociované s vysokým/středním rizikem OC, nicméně potvrzení významu těchto změn bude vyžadovat další výzkum.

Zajímavým výsledkem jsou nálezy u nosičů patogenních variant v *NBN* a *BARD1* spojené se zvýšeným rizikem OC v kontrastu s dříve publikovanými pracemi. (Ramus S.J. et al, 2015; Lu H.M. et al, 2019) Podobně jako v případě výše uvedeného článku týkajícího se významu *NBN* v predispozici karcinomu pankreatu se i zde ukazuje, že zastoupení mutací v určitých predispozičních genech se může lišit mezi jednotlivými populacemi a s ním i význam konkrétního genu pro riziko nádorových onemocnění.

V rámci prevence vzniku OC je klíčové provedení preventivní salpingoophorektomie u pacientek s vysokým celoživotním rizikem. Zdá se, že ve slovanské populaci je procento hereditárních karcinomů vaječníku vyšší (dosahuje až 30 %) a s ohledem na výskyt některých konkrétních mutací v dané populaci je k tomuto riziku nutno přistupovat obezřetně. Z uvedeného vyplývá, že téměř třetina pacientek s OC představuje adeptky cílené léčby (např. PARPi). Z pohledu preventivní onkologie je nezbytná další analýza klinicko-patologických charakteristik onemocnění u nosiček germinálních variant, která umožní lepší načasování preventivní salpingoophorektomie s ohledem na omezení nežádoucích důsledků předčasné menopauzy.

Estrogen Receptor Status Oppositely Modifies Breast Cancer Prognosis in *BRCA1/BRCA2* Mutation Carriers Versus Non-Carriers.

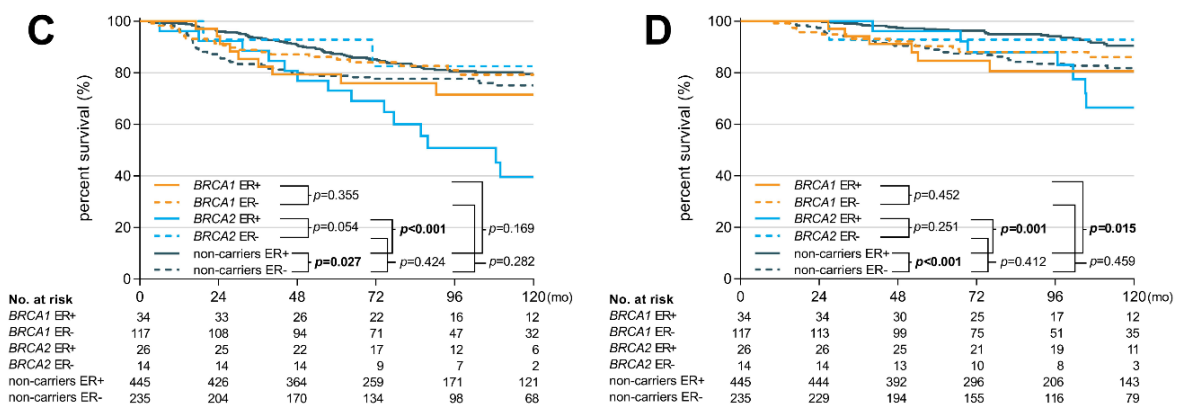
Cancers 2019;11(6):738.

Vocka M., Zimovjanova M., Bielcikova Z., Tesarova P., Petruzelka L., Mateju M., Krizova L., Kotlas J., Soukupova J., Janatova M., Zemankova P., Kleiblova P., Novotny J., Konopasek B., Chodacka M., Brychta M., Sochor M., Smejkalova-Musilova D., Cmejlova V., Kozevnikovova R., Miskarova L., Argalacsova S., Stolarova L., Lhotova K., Borecka M., Kleibl Z.

Nádorová onemocnění vznikající na podkladě dědičné dispozice se mohou od sporadických onemocnění výrazně lišit. Expresse estrogenních receptorů (ER) je důležitým prognostickým a prediktivním ukazatelem u pacientek se sporadickým karcinomem prsu. Řada prací hodnotila prognostický význam přítomnosti mutací genu *BRCA1* a *BRCA2* u pacientek s karcinomem prsu protichůdně (van den Broek A.J. et al, 2015; Baretta Z. et al, 2016; Copson E.R. et al, 2018).

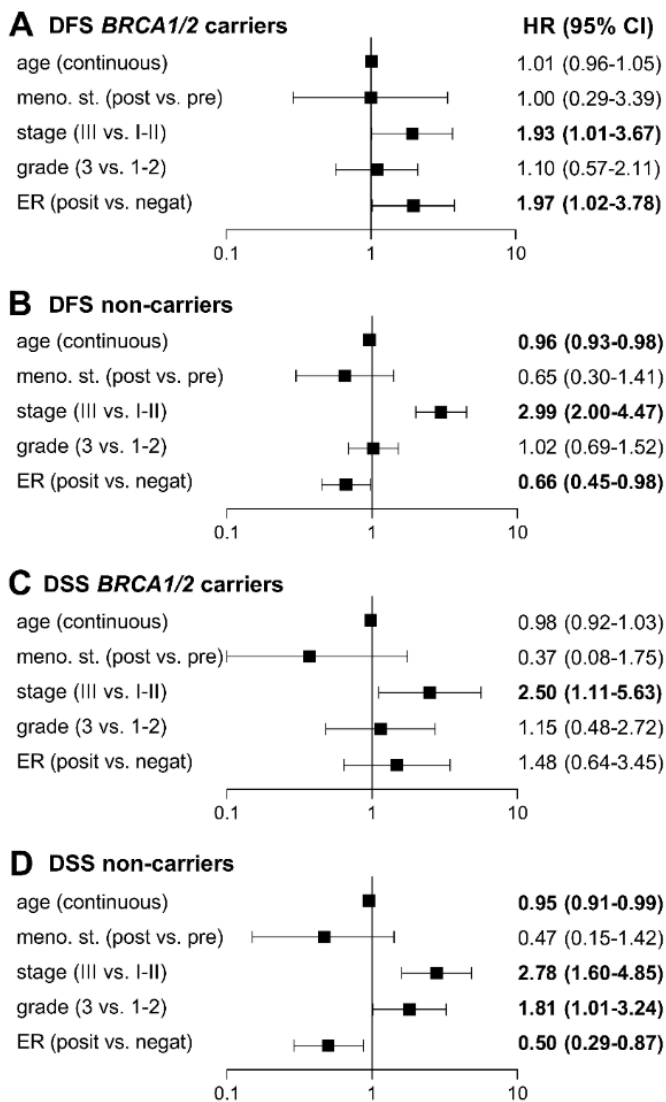
Na souboru 1133 pacientek s karcinomem prsu (234 nosiček *BRCA1/BRCA2* mutací a 899 nenosiček) jsme analyzovali význam přítomnosti mutací *BRCA1* a *BRCA2* na klinické a patologické charakteristiky ve vztahu k přežití pacientek. Analýza pozitivitu parametru ER ve vztahu k prognóze přinesla překvapivý výsledek. U nosiček mutací v genech *BRCA1/BRCA2* byla pozitivita ER spojena s 3,14krát vyšším rizikem návratu onemocnění (95 % CI 1,69–5,81; $p = 0,003$) a 5,70krát vyšším rizikem úmrtí v souvislosti s karcinomem prsu (95 % CI 2,27–14,4; $p < 0,001$) ve srovnání s nenosičkami (Obrázek 3).

Obrázek 3: Kaplan-Meierovy křivky porovnávající DFS a DSS dle stavu estrogenních receptorů u nosiček mutace *BRCA1*, *BRCA2* a nenosiček.



Na základě faktorů identifikovaných v předchozích analýzách (věk a stav ER) jsme se rozhodli ověřit jejich kombinovaný efekt na prognózu pacientek. Nosičky mutací v genech *BRCA1/BRCA2* s ER-pozitivním karcinomem prsu diagnostikovaným ve věku 35 a více vykazovaly 4,56krát vyšší riziko recidivy onemocnění (95 % CI 2,00–10,37) a 8,24krát vyšší riziko úmrtí v souvislosti s karcinomem prsu (95 % CI 2,37–28,72]) oproti ER-pozitivním nenosičkám stejného věku.

K potvrzení významného vlivu věku v době diagnózy a stavu ER jsme provedli multivariační analýzu, do níž jsme zahrnuli všechny parametry signifikantně rozdílné v rámci předchozí univariační analýzy (Obrázek 4).



Obrázek 4: Grafické znázornění výsledků multivariační analýzy rizikových faktorů pro DFS a DSS (multivariable Cox proportional-hazard model):

Věk v době diagnózy (spojitý), monoaktivita (postmenopauzální vs premenopauzální), stadium nemoci (III vs. I-II), stupeň diferenciacce (grade 3 vs 1-2) a stav ER (pozitivní vs. negativní).

Multivariační analýza potvrdila zcela opačný vliv stavu ER na přežívání u nosiček mutací *BRCA1/BRCA2* (negativní faktor, statisticky významný u DFS) a nenosiček (pozitivní prognostický faktor, statisticky významný jak u DFS, tak u DSS). Věk v době diagnózy zůstal významným faktorem pouze u nenosičů, podobně též nízký stupeň diferenciacie (statisticky významný pouze v rámci DSS).

Uvedené výsledky jasně ukazují, že nádorová onemocnění nosiček *BRCA1/BRCA2* se mohou lišit oproti sporadickým karcinomům se stejnou charakteristikou. Hormonálně pozitivní karcinom prsu (bez ohledu na mutační stav *BRCA1/BRCA2*) je v současnosti považován za onemocnění s relativně příznivou prognózou, umožňující často vynechání adjuvantní chemoterapie. Naproti tomu nosičky mutací *BRCA1/BRCA2* s hormonálně pozitivními karcinomy prsu by měly být vnímány jako extrémně rizikové pacientky stran případné recidivy onemocnění a podle toho by k nim mělo být přistupováno. Zařazení PARP inhibitorů do adjuvantní terapie nezávisle na stádiu onemocnění by zde mělo být samozřejmostí.

Prevalence of Germline Pathogenic Variants in Cancer Predisposing Genes in Czech and Belgian Pancreatic Cancer Patients.

Cancers. 2021; 13(17):4430. 12(4):956.

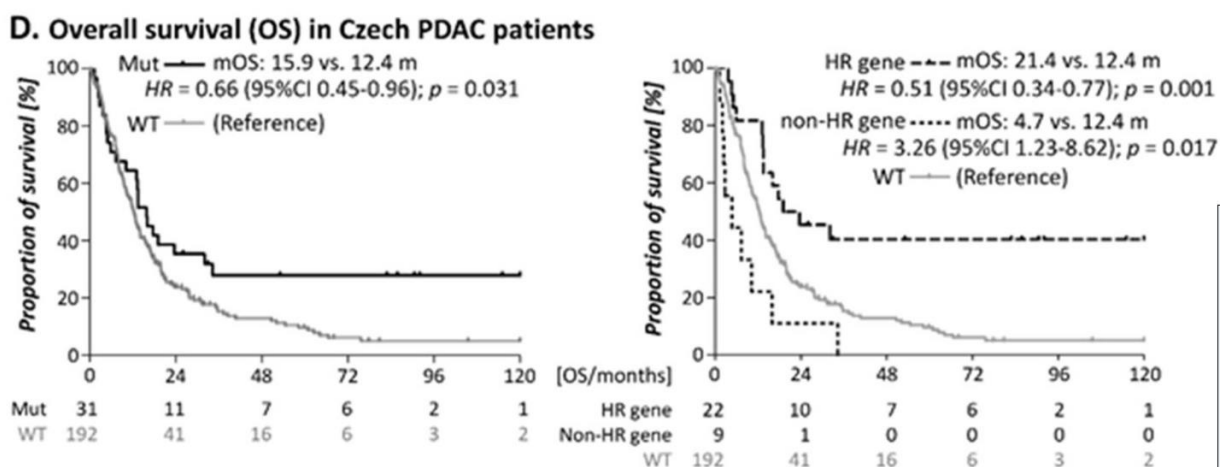
Wieme G., Kral J., Rosseel T., Zemankova P., Parton B., **Vocka M.**, Van Heetvelde M., Kleiblova P., Blaumeiser B., Soukupova J., van den Ende J., Nehasil P., Tejpar S., Borecka M., Gómez García E.B., Blok M.J., Safarikova M., Kalousova M., Geboes K., De Putter R., Poppe B., De Leeneer K., Kleibl Z., Janatova M., Claes K.B.M.

Publikovaná studie umožnila srovnání zárodečných mutací v predispozičních genech u neselektovaných českých a vysoce rizikových belgických pacientů s karcinomem pankreatu. Nejčastěji mutované geny v naší studii zahrnovaly *ATM*, *BRCA1* a *BRCA2* (zjištěno u 25/35; 71,4 % pacientů). Patogenní mutace v genu *BRCA2* tvořily 17 % u belgických a 50 % u českých pacientů.

Je zajímavé, že zatímco u belgických a českých pacientek s karcinomem prsu je frekvence zárodečných mutací v genu *BRCA1* vyšší než v genu *BRCA2*, patogenní mutace v genu *BRCA2* převažují u pacientek s karcinomem pankreatu v obou populacích. (Claes K. et al, 2004; Pohlreich P. et al, 2005). Riziko spojené s mutacemi *BRCA2* by mohlo být vyšší u karcinomu pankreatu než u karcinomu prsu dle analýzy vyšetřovaných pacientů oproti datům gnomAD (*BRCA1* OR = 6,0 vs. *BRCA2* OR = 11,7).

Další důležitou informaci přinesla analýza celkového přežití, již jsme provedli u 223 českých pacientů, kteří zahrnovali 31 nosičů patogenních germinálních mutací. Riziko úmrtí bylo významně sníženo u nosičů patogenních variant ve srovnání s nenosiči (15,9 vs. 12,4 měsíce, HR 0,66; 95 % CI 0,45-096; $p = 0,031$). Změna prognózy byla spojena zejména s nosičstvím patogenních mutací v genech kódujících proteiny, které se podílejí na opravách dvouřetězcových zlomů DNA pomocí procesu homologní rekombinace (tzv. HR geny: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *ERCC4*, *FANCE*, *FANCG* a *PALB2*; obrázek 5). Ve skupině HR genů jsme identifikovali téměř dvojnásobný medián přežití v porovnání s nenosiči dědičných mutací (21,4 vs. 12,4 měsíců). Podobný výsledek zaznamenaly i nedávné studie prováděné u pacientů s karcinomem pankreatu v Japonsku (Hata T. et al, 2021) či USA (Uson P.L.S. et al, 2021; Goldstein J.B. et al, 2020). Naopak přežití u nosičů germinálních variant v genech, které kódují geny nepodílející se na procesu HR, bylo velmi nepříznivé, nicméně toto zjištění bude vyžadovat potvrzení na rozsáhlejší souboru.

Obrázek 5: Celkové přežití pacientů s karcinomem pankreatu v závislosti na přítomnosti patogenních mutací v predispozičních genech (vlevo) a v predispozičních genech rozdělených na geny kódující proteiny oprav DNA pomocí homologní rekombinace (HR geny) a ostatní predispoziční geny (non-HR geny).



Znalost přítomnosti patogenních mutací v genech *BRCA1/BRCA2* má v současné době kromě prognostického významu také význam prediktivní. U pacientů s metastatickým karcinomem pankreatu s prokázanou germinální mutací *BRCA1/BRCA2* je možné žádat plátce zdravotní péče o úhradu olaparibu v monoterapii jakožto udržovací terapie po předchozí terapii platinovým derivátem po dobu nejméně 16 týdnů. Kompletní remise trvající 30 měsíců u pacienta s metastatickým karcinomem pankreatu, který nesl patogenní germinální alterace v genech *BRCA2* a současně *CHEK2*, byla nedávno dokumentována u pacienta ze Slovenska (Pazderová N. et al, 2020).

Analýza predispozičních genů a rizik s nimi souvisejících je nevyhnutelným předpokladem individuálního screeningového a preventivního plánu umožňujícího nádorovým onemocněním úspěšně předcházet, případně je detekovat v časných stádiích. Stanovení rizik pro jednotlivé geny by mělo být populačně specifické s ohledem na endemický výskyt určitých variant. Vzhledem k důkazům o rozdílném chování nádorových onemocnění u nosičů oproti nenosičům by měly být identifikovány důvody této diference, aby se napříště mohly stát podkladem pro odlišný terapeutický postup, jak tomu již u některých malignit je. Zároveň pak přítomnost určitých zárodečných mutací představuje vhodný cíl pro tzv. terčovou (cílenou) terapii (např. PARP inhibitory).

3.2 Diagnostika časných stádií

V případě neúspěšných preventivních opatření je klíčovým momentem úspěšné terapie nádorových onemocnění časná diagnostika. Pro včasnou detekci jsou potom zcela zásadní senzitivní metody a markery, které umožní zachytit onemocnění ve stádiu prekancerózy nebo ve velmi časném stádiu. Nižší stádium totiž umožňuje menší zásah do organismu a významně zlepšuje dlouhodobé výsledky terapie, a to včetně nádorových onemocnění se špatnou prognózou (např. karcinom pankreatu). Zároveň při řešení prekanceróz či nižších stádií onemocnění není vždy nutné podání adjuvantní terapie.

Novel spectroscopic biomarkers are applicable in non-invasive early detection and staging classification of colorectal cancer.

Neoplasma. 2020; 67(6):1349-1358.

Miskovicova M., Fryba V., Petruzelka L., Setnicka V., Synytsya A., Tatarkovic M., Ulrych J., **Vocka M.**

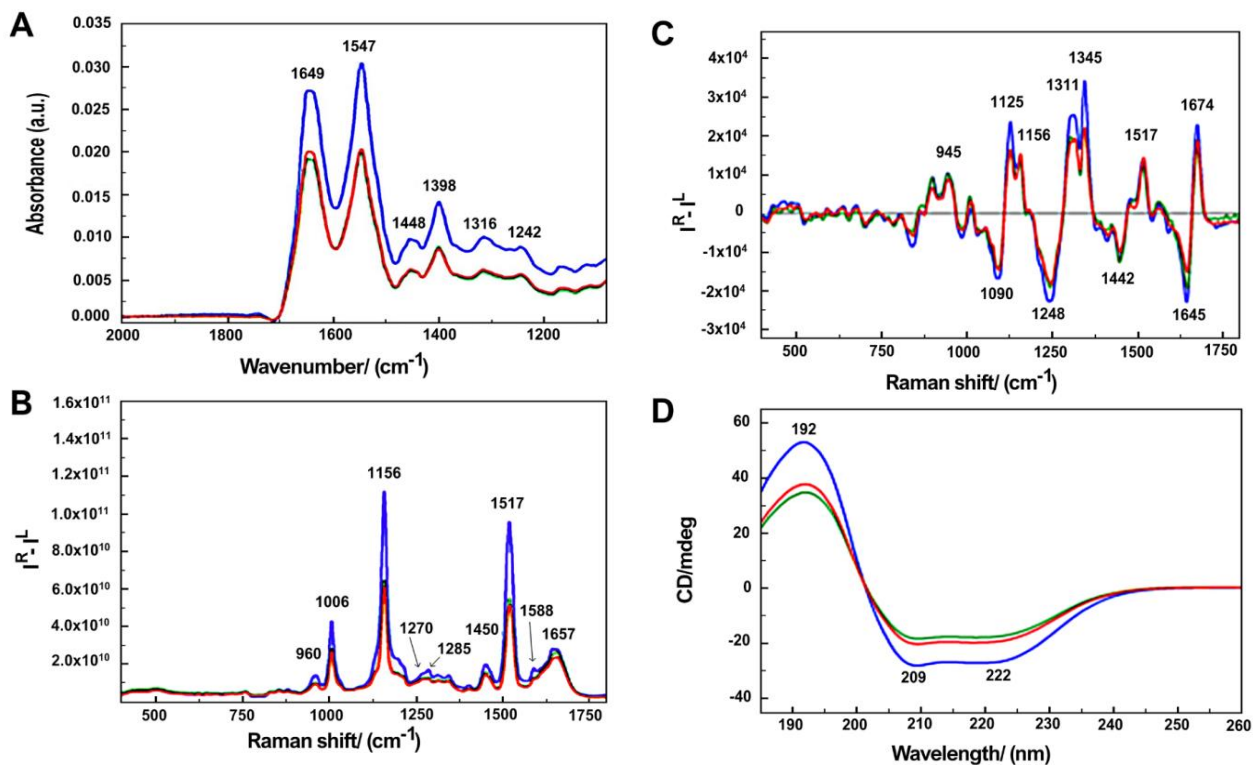
Ramanova spektroskopie poskytuje přesné informace nejen o sekundární struktuře proteinů, ale umožňuje také rozlišení mezi normálními a maligními tkáněmi. (Tatarkovič M. et al, 2015; Das N.K. et al, 2017) Pro ověření nového diagnostického přístupu založeného na kombinaci konvenčních metod molekulární spektroskopie (Ramanova a infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací [FT-IR]) s elektronovým cirkulárním dichroismem (ECD) a Ramanovou optickou aktivitou (ROA) bylo otestováno 63 vzorků krevní plazmy (30 vzorků pacientů s karcinomem tlustého střeva a rektu a 33 vzorků zdravých kontrol).

Podle našich pozorování se nejvýraznější spektrální rozdíly mezi krevní plazmou pacientů s karcinomem kolon nebo rektu (CRC) a zdravých kontrol vyskytují ve spektrálních oblastech, které primárně odrážejí změny v sekundární struktuře proteinů. Navíc velmi nízké intenzity karotenoidových pásů v Ramanových spektrech pacientů s karcinomem kolon a rektu mohou souviset s rozsahem onemocnění.

Jednotlivé spektrální metody (FT-IR, Raman, ROA, ECD) mají omezenou schopnost odlišit kontrolní skupinu od pacientů (**obrázek 6**), jejich kombinace však dokáže významně zvýšit přesnost rozlišení (90 % senzitivita při 85 % specificitě). V podskupině pacientů s lokalizovaným tumorem bez postižení uzlin (stádium I a II) dosahovala celková přesnost 82 % a u pacientů ve stádiu III (postižení regionálních uzlin) 64 %.

V publikované práci jsme ukázali, že chiroptickou spektroskopii lze v kombinaci s Ramanovou a FT-IR spektroskopií použít pro rozlišení kontrolní skupiny od pacientů s CRC a současně pro stanovení rozsahu nádorového postižení. Dosažené výsledky naznačují, že chiroptická spektroskopie by se mohla stát novou rychlou podpůrnou metodou v klinické diagnostice CRC založenou na analýze krevní plazmy, která je pro pacienty minimálně invazivní a zároveň nabízí potenciálně včasnou detekci pro pacienty s CRC, není-li přítomna regionální lymfadenopatie.

Obrázek 6: Výsledky analýzy vzorků plazmy pacientů s karcinomem kolon a rekta stádia I-II, stádia III-IV a zdravých kontrol metodou infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (A), Ramanových spekter (B), Ramanovy optické aktivity (ROA) (C), elektronového cirkulárního dichroismu (ECD) (D).



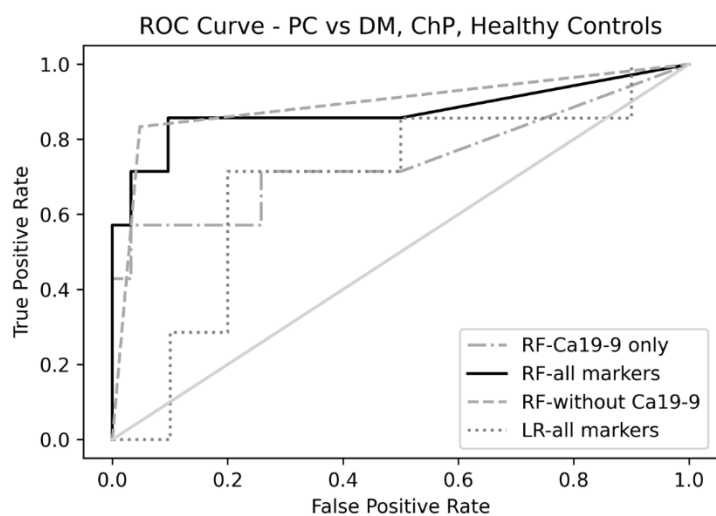
V návaznosti na publikovaná data probíhá grantový projekt „Vývoj nových analytických přístupů pro včasné odhalení adenomatózních polypů a prevenci kolorektálního karcinomu“ (AZV NU20-09-00229) ověřující přesnost a využitelnost spektroskopického vyšetření v průběhu kolonoskopického vyšetření s cílem odlišit benigní léze, adenomy s nízkým nebo vysokým stupněm dysplazie, karcinomy *in situ* a invazivní tumory tlustého střeva.

Novel biochemical markers for non-invasive detection of pancreatic cancer.

Neoplasma. 2022; 69(2):474-483.

Hrabák P., Šoupal J., Kalousová M., Krechler T., **Vočka M.**, Hanuš T., Petruželka L., Svačina Š., Žák A., Zima T.

Navzdory množství finančních prostředků, jež jsou investovány do výzkumu diagnostických a terapeutických možností u pacientů s karcinomem pankreatu, zůstávají výsledky léčby tohoto nádorového onemocnění i nadále velmi špatné. V současné době je jedinou skutečně úspěšnou terapeutickou možností radikální chirurgické řešení, které ovšem vyžaduje včasný záchyt. V současné době bohužel neexistuje žádný spolehlivý marker využitelný pro časnou diagnostiku. Široce využíván je nádorový marker CA19-9, přestože jeho specifita ani sensitivita není uspokojující. Ke zvýšení hladiny tohoto glykoproteinu dochází například u pacientů s akutní nebo chronickou pankreatitidou, cholangitidou, cirhózou jater či obstrukčním ikterem. Jeho citlivost u malých (<3 cm) nádorů slinivky břišní je však velmi nízká. (Scara S. et al, 2015).



Obrázek 7: ROC křivky jednotlivých skupin markerů.

RF: CA19-9, S100P, AAT, albumin, adiponectin, IGF-1, MMP7, S100A11; LR: albumin. AAT, S100P, CRP, CA19-9, TFF1, MMP-7; RF bez CA19-9: SAA, prealbumin, HSP27, TP, adiponectin, CEA, IGF-2, AMS-P

Cílem výzkumu proto bylo identifikovat markery pro časnou diagnostiku pacientů s lokalizovanými karcinomy pankreatu oproti kontrolní skupině složené z pacientů s diabetem 2. typu, s chronickou pankreatitidou a zdravých kontrol. V rámci analyzovaných markerů bylo identifikováno 5 proteinů s potenciálem odlišit časně tumory od kontrolní skupiny, které dosud nebyly v této klinické situaci testovány a publikovány (Midkine, S100P, S100A11, Reg3A, DJ-1). Metodou náhodného lesa (*random forest analysis*) byl identifikován panel složený

z markerů S100 kalcium vážící protein P (S100P), alpha-1-antitrypsin (AAT), albumin, adiponectin, insulinový růstový faktor 1 (IGF-1), matrixová metaloproteináza 7 (MMP7), S100 kalcium vážící protein 11 (S100A11) a CA19-9, který významně zlepšuje sensitivitu a specifitu v identifikaci pacientů s časným karcinomem pankreatu oproti kontrolní skupině než samotný marker CA19-9 (Obrázek 7).

Identifikované markery poukazují na komplexnost kancerogeneze. Zatímco některé z nich se přímo účastní kancerogeneze (DJ-1, IGF-1, MMP7, S100A11, S100P), další souvisejí s nutričním stavem pacienta (prealbumin) či odrážejí přítomnost systémového zánětu (adiponektin, AAT). Zdá se, že tyto výsledky v zásadě potvrzují předchozí poznatky a ukazují na přítomnost nádorového mikroprostředí nezbytného pro vznik a šíření rakoviny. Přestože výsledky vypadají slibně, bude třeba potvrdit data na rozsáhlejším souboru pacientů a ozřejmit přínos časnější diagnostiky na zlepšené přežívání pacientů.

3.3 Individualizace léčby časných a pokročilých stádií

V případě lokalizovaného onemocnění po radikální resekci jsou prognostické markery nutné pro správné rozhodnutí o indikaci adjuvantní terapie, tak aby pacient nebyl zbytečně vystaven nežádoucím účinkům terapie a současně aby bylo minimalizováno riziko návratu nemoci. Prognostický význam přítomnosti tumor infiltrujících lymfocytů (TIL) v nádorové tkáni byl analyzován řadou prací u různých nádorových onemocnění, včetně karcinomu tlustého střeva a konečníku. (Galon J. et al, 2006; Laghi L. et al, 2009; Mlecnik B. et al, 2011; Fridman W.H. et al, 2012; Galon J. et al, 2014). Stanovení TIL však bylo hodnoceno semikvantitativně často se značnou diferencí mezi jednotlivými pracovišti, ba dokonce i v rámci téhož pracoviště. V roce 2012 vzniklo konsorcium Immunoscore sdružující 14 velkých center ze 13 zemí, včetně VFN v ČR. Jeho cílem bylo zavedení reprodukovatelné a spolehlivé metody klasifikace rizika rekurence karcinomu tlustého střeva a konečníku, která je založena na kvantifikaci CD8+ (cytotoxických) a CD3+ T-lymfocytů v centrální části tumoru a v invazivním okraji nádoru. Na validaci Immunoscore je zaměřeno několik následujících článků.

V sérii dalších prací jsme se věnovali otázce identifikace prognostických markerů u metastatického karcinomu tlustého střeva. Výsledky léčby většiny generalizovaných nádorových onemocnění závisí na možnosti využít chirurgického odstranění metastáz nebo jejich residuí po onkologické terapii. Játra jsou nejčastějším sídlem metastatického procesu karcinomu tlustého střeva a rekta s incidencí přibližně 25 % (synchronní 13,8–17,1 % a metachronní 7,6–15,1 %). (Engstrand J. et al, 2018; van der Geest L.G. et al, 2015; Hackl C. et al, 2014) U 20–35 % nemocných je metastatický proces přítomen pouze v játrech, z toho 20–25 % je primárně resekovatelné a dalších přibližně 10 % se může resekovatelnými stát po vhodné zvolené indukční terapii. Nejvyšší míru konverze do resekovability prokázaly trojkombinace cytostatik a cílená terapie zaměřená proti receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) u pacientů bez mutací v genech K-RAS, N-RAS a BRAF. (Chrabaszcz S. et al, 2022) U pacientů po úspěšném chirurgickém výkonu po indukční terapii bylo dosaženo 5letého přežití u 30–35 % na rozdíl od kombinované systémové terapie (přibližně 20 %).

Chemoterapie v kombinaci s cílenou terapií nese kromě prodloužení celkového přežití řadu závažných nežádoucích účinků, jež významně zhoršují kvalitu života nemocných a vzácně

mohou vést k předčasnému úmrtí v souvislosti s terapií. Hledání prognostických a prediktivních markerů je proto s ohledem na biologické chování tumoru a jeho prognózu pro optimální zvolení terapie u konkrétního pacienta zcela klíčové.

Rešerší dostupné literatury jsme nejprve identifikovali 32 proteinových markerů spojených s diagnostikou kolorektálního karcinomu, jež byly následně vyšetřeny v našem souboru 97 pacientů s histologicky verifikovaným metastatickým kolorektálním karcinomem (u 58 z nich byly k dispozici sérové vzorky s odstupem 3 měsíců) a 59 zdravých kontrol s negativní kolonoskopií předcházející odběru.

International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study.

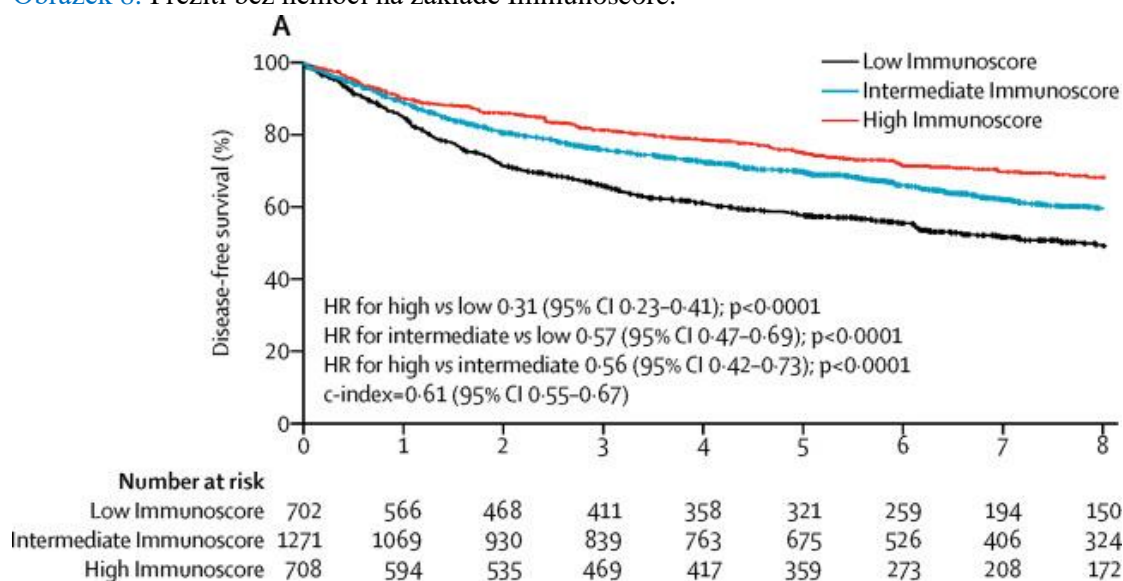
Lancet. 2018;391(10135): 2128-2139.

Pagès F., Mlecnik B., Marliot F., Bindea G., Ou F.S., Bifulco C., Lugli A., Zlobec I., Rau T.T., Berger M.D., Nagtegaal I.D., Vink-Börger E., Hartmann A., Geppert C., Kolwelter J., Merkel S., Grützmann R., Van den Eynde M., Jouret-Mourin A., Kartheuser A., Léonard D., Remue C., Wang J.Y., Bavi P., Roehrl M.H.A., Ohashi P.S., Nguyen L.T., Han S., MacGregor H.L., Hafezi-Bakhtiari S., Wouters B.G., Masucci G.V., Andersson E.K., Zavadova E., **Vocka M.**, Spacek J., Petruzelka L., Konopasek B., Dundr P., Skalova H., Nemejcova K., Botti G., Tatangelo F., Delrio P., Ciliberto G., Maio M., Laghi L., Grizzi F., Fredriksen T., Buttard B., Angelova M., Vasaturo A., Maby P., Church S.E., Angell H.K., Lafontaine L., Bruni D., El Sissy C., Haicheur N., Kirilovsky A., Berger A., Lagorce C., Meyers J.P., Paustian C., Feng Z., Ballesteros-Merino C., Dijkstra J., van de Water C., van Lent-van Vliet S., Knijn N., Muşină A.M., Scripcariu D.V., Popivanova B., Xu M., Fujita T., Hazama S., Suzuki N., Nagano H., Okuno K., Torigoe T., Sato N., Furuhashi T., Takemasa I., Itoh K., Patel P.S., Vora H.H., Shah B., Patel J.B., Rajvik K.N., Pandya S.J., Shukla S.N., Wang Y., Zhang G., Kawakami Y., Marincola F.M., Ascierto P.A., Sargent D.J., Fox B.A., Galon J.

V rámci analýzy >3500 vzorků lokalizovaného karcinomu tlustého střeva bylo vyšetřeno 250 vzorků z VFN, které autor předkládané habilitační práce zpracoval pro stanovení Immunoscore na Institutu patologie v Erlangenu (Pathologisches Institut Universitätsklinikum, Erlangen, Německo) v rámci mezinárodní spolupráce. Na základě přítomnosti buněk lymfocytů v centrální části tumoru a v invazivním okraji byli pacienti dle Immunoscore stratifikováni do 3 skupin (low, medium, high).

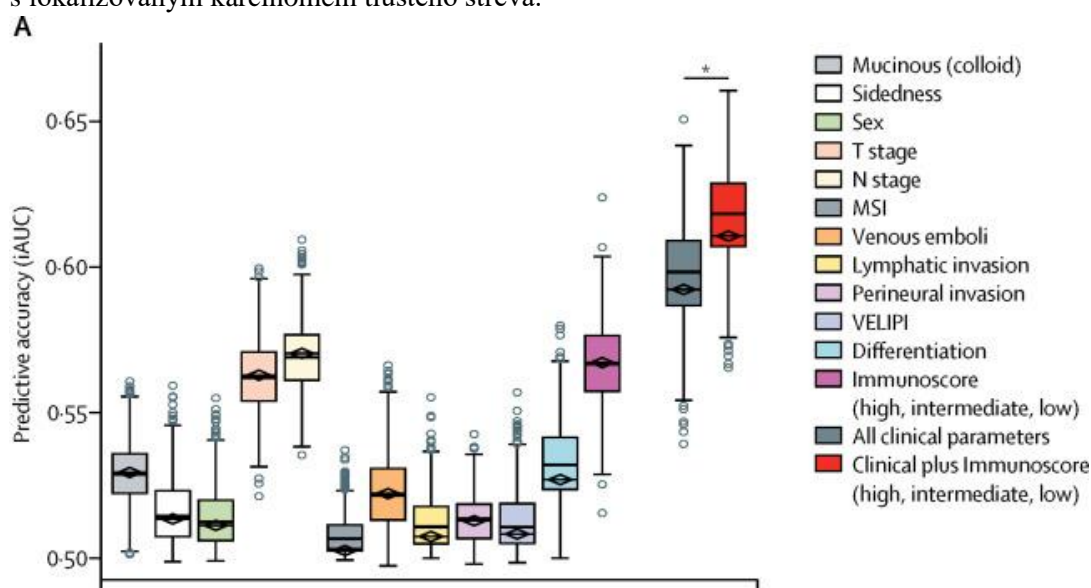
Immunoscore prokázalo vysokou úroveň reprodukovatelnosti mezi vyšetřujícími osobami a jednotlivými centry ($r = 0,97$ pro nádorovou tkáň; $r = 0,97$ pro invazivní okraj; $p < 0,0001$). Přežití bez onemocnění po 5 letech bylo zaznamenáno u 428 (75 %) pacientů s vysokým, 688 (70 %) pacientů se středním a 271 (57 %) pacientů s nízkým Immunoscore ([obrázek 8](#)). Pacienti s prokázanou mikrosatelitovou nestabilitou (MSI) měli častěji vysoké Immunoscore (45 %) oproti pacientům se stabilitou mikrosatelitových oblastí (MSS; 21 %).

Obrázek 8: Přežití bez nemoci na základě Immunoscore.



Přítomnost mikrosatelitové nestability v rámci Immunoscore skupiny nevedla k rozdílu v přežití bez nemoci. Prognostický význam Immunoscore pro celkové přežití byl celkově lepší než u existujících parametrů rizika nádoru, jako je stupeň diferenciace, stav MSI, mucinózní koloidní typ, stranová lokalizace, žilní embolie, lymfatická invaze, perineurální invaze a VELIPI (obrázek 9). Navíc přidání Immunoscore k modelu, který kombinuje všechny klinické proměnné, významně zlepšilo predikci celkového přežití ($p < 0,0001$). Kromě toho bylo Immunoscore prediktivní také pro pacienty s nádory T4 a N2.

Obrázek 9: Prediktivní význam jednotlivých klinických parametrů a Immunoscore pro přežití pacientů s lokalizovaným karcinomem tlustého střeva.



Na základě uvedených výsledků lze pomocí Immunoscore identifikovat pacienty s vysokým rizikem relapsu onemocnění, a to nezávisle na stádiu onemocnění a dalších charakteristikách nádorového onemocnění včetně mikrosatelitové nestability. Pro jednoznačně zařazení do rutinní praxe prozatím chybí širší dostupnost metody (finanční i místní) a současně bude zapotřebí prospektivních studií, jež by potvrdily přínos adjuvantní terapie u pacientů stratifikovaných na základě Immunoscore (u vysokého skóre především zodpovědět, zda ji vůbec podávat, u nízkého skóre pak určit, jak dlouho ji podávat, případně v jaké konkrétní kombinaci a zda vůbec její podání vede k lepším výsledkům terapie).

Multicenter International SITC Study of the Consensus Immunoscore for the Prediction of Survival and Response to Chemotherapy in Stage III Colon Cancer.

JCO 2020; J Clin Oncol. 2020;38(31):3638-3651

Mlecnik B., Bifulco C., Bindea G., Marliot F., Lugli A., Lee JJ., Zlobec I., Rau T.T., Berger M.D., Nagtegaal I.D., Vink-Börger E., Hartmann A., Geppert C., Kolwelter J., Merkel S., Grützmann R., Van den Eynde M., Jouret-Mourin A., Kartheuser A., Léonard D., Remue C., Wang J.Y., Bavi P., Roehrl M.H.A., Ohashi P.S., Nguyen L.T., Han S., MacGregor H.L., Hafezi-Bakhtiari S., Wouters B.G., Masucci G.V., Andersson E.K., Zavadova E., **Vocka M.**, Spacek J., Petruzelka L., Konopasek B., Dundr P., Skalova H., Nemejcova K., Botti G., Tatangelo F., Delrio P., Ciliberto G., Maio M., Laghi L., Grizzi F., Fredriksen T., Buttard B., Lafontaine L., Bruni D., Lanzi A., El Sissy C., Haicheur N., Kirilovsky A., Berger A., Lagorce C., Paustian C., Ballesteros-Merino C., Dijkstra J., van de Water C., van Lent-van Vliet S., Knijn N., Muşină A.M., Scripcariu D.V., Popivanova B., Xu M., Fujita T., Hazama S., Suzuki N., Nagano H., Okuno K., Torigoe T., Sato N., Furuhata T., Takemasa I., Itoh K., Patel P.S., Vora H.H., Shah B., Patel J.B., Rajvik K.N., Pandya S.J., Shukla S.N., Wang Y., Zhang G., Kawakami Y., Marincola F.M., Ascierto P.A., Fox B.A., Pagès F., Galon J.

Podání zajišťovací (adjuvantní) chemoterapie se doporučuje u všech pacientů s karcinomem tlustého střeva stádia III. Riziko úmrtí klesá o 10–15 % po adjuvantní terapii fluoropyrimidiny a o 20 % při kombinaci fluoropyrimidinů a oxaliplatinu. (André T et al, 2004; Twelves C. et al, 2005; Yothers G. et al, 2011) Skutečný prospěch z adjuvantní terapie má pouze 20 % pacientů, přičemž ostatní jsou vystaveni zbytečné toxicitě, jelikož asi 50 % z nich by dosáhlo srovnatelného výsledku pouze operačním výkonem a 30 % recidivuje i po podání chemoterapie. (Auclin E. et al, 2017)

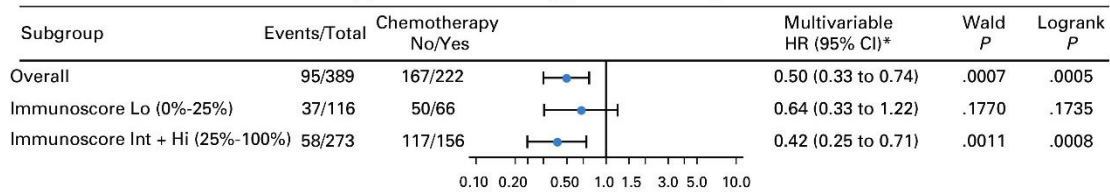
Smyslem multicentrické studie, jíž se účastnila i skupina nemocných z VFN, bylo zjištění prognostického významu Immunoscore u pacientů s karcinomem kolon stádia III a významu adjuvantní terapie u této skupiny. Pacienti s vysokým Immunoscore měli oproti pacientům s nízkým skóre nižší procento relapsů (5leté přežití bez relapsu u vysokého dosáhlo 27,7 % proti 63,6 % u nízkého Immunoscore, HR 0,34; 95 % CI 0,14-0,83; $p = 0,0176$) a významně se lišilo též celkové přežití (HR 0,34; 95 % CI 0,15-0,70; $p = 0,0045$).

U pacientů s vysokým Immunoscore bylo podání adjuvantní terapie spojeno s delším přežitím jak u skupiny s nízkým rizikem relapsu dle patologických charakteristik (HR 0,42; 95 % CI,

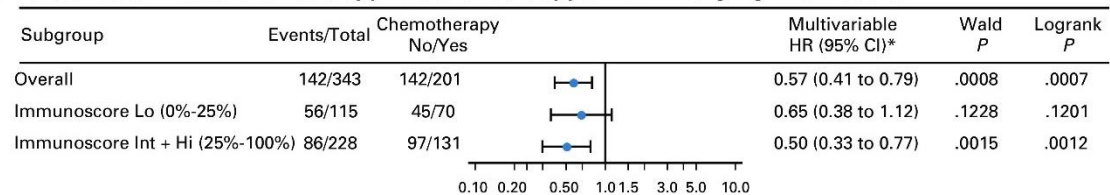
0,25-0,71; $p = 0,0011$), tak u pacientů s vysokým rizikem (HR 0,5; 95 % CI, 0,33-0,77; $p = 0,0015$). Pacienti s nízkým Imunoscore z terapie neprofitovali ($p = 0,12$; [Obrázek 10](#)).

Obrázek 10: Význam podání adjuvantní chemoterapie u pacientů s karcinomem tlustého střeva s vysokým a nízkým rizikem relapsu.

D Forest Plot of Effect of Chemotherapy v No Chemotherapy on TTR Among Low-Risk Patients



E Forest Plot of Effect of Chemotherapy v No Chemotherapy on TTR Among High-Risk Patients



Pacienti s karcinomem tlustého střeva stádia III s nízkým Imunoscore nemají prospěch z chemoterapie, zatímco pacienti se středním a vysokým Imunoscore z podání chemoterapie jednoznačně profitují. Nepodání chemoterapie na základě nízkého Imunoscore u pacientů stádia III však před eventuálním zavedením do klinické praxe bude vyžadovat prospektivní randomizovanou studii.

Clinical Performance of the Consensus Immunoscore in Colon Cancer in the Asian Population from the Multicenter International SITC Study.

Cancers (Basel). 2022;14(18):4346.

Mlecnik B., Torigoe T., Bindea G., Popivanova B., Xu M., Fujita T., Hazama S., Suzuki N., Nagano H., Okuno K., Hirohashi Y., Furuhashi T., Takemasa I., Patel P., Vora H., Shah B., Patel J.B., Rajvik K.N., Pandya S.J., Shukla S.N., Wang Y., Zhang G., Yoshino T., Taniguchi H., Bifulco C., Lugli A., Lee J.J., Zlobec I., Rau T.T., Berger M.D., Nagtegaal I.D., Vink-Börger E., Hartmann A., Geppert C., Kolwelter J., Merkel S., Grützmann R., Van den Eynde M., Jouret-Mourin A., Kartheuser A., Léonard D., Remue C., Wang J., Bavi P., Roehrl M.H.A., Ohashi P.S., Nguyen L.T., Han S., MacGregor H.L., Hafezi-Bakhtiari S., Wouters B.G., Masucci G.V., Andersson E., Zavadova E., **Vocka M.**, Spacek J., Petruzella L., Konopasek B., Dundr P., Skalova H., Nemejcova K., Botti G., Tatangelo F., Delrio P., Ciliberto G., Maio M., Laghi L., Grizzi F., Marliot F., Fredriksen T., Buttard B., Lafontaine L., Maby P., Majdi A., Hijazi A., El Sissy C., Kirilovsky A., Berger A., Lagorce C., Paustian C., Ballesteros-Merino C., Dijkstra J., Van de Water C., van Lent-van Vliet S., Knijn N., Muşină A.M., Scripcariu D.V., Marincola F.M., Ascierto P.A., Fox B.A., Pagès F., Kawakami Y., Galon J.

Analýza pacientů asijského původu vyšetřených v rámci Immunoscore konsorcia potvrdila předchozí výsledky v rámci celého souboru. Vysoké Immunoscore prokázalo jednoznačnou souvislost s prodlouženým časem do relapsu a celkovým přežitím, a to včetně mikrosatelitově stabilních pacientů ($p \leq 0,0001$) a pacientů stádia II ($p = 0,0052$), včetně nížce ($p = 0,0146$) a vysoce rizikových pacientů ve stádiu II ($p = 0,0055$). Vysoké Immunoscore jednoznačně souvisí s prodlouženým přežitím pacientů s karcinomem tlustého střeva v asijské populaci, podobně jako v celém souboru pacientů Immunoscore.

Na základě dostupných dat není pochyb o tom, že Immunoscore má u pacientů s lokalizovaným karcinomem tlustého střeva prognostický význam nezávisle na běžně užívaných prognostických faktorech. Prediktivní význam pro podání chemoterapie u jednotlivých stádií bude však před zavedením do klinické praxe nutno potvrdit prospektivní randomizovanou studií stratifikující podle hodnoty Immunoscore namísto podle stádia onemocnění a dalších rutinně používaných rizikových faktorů a randomizující mezi rameno s chemoterapií (kombinovanou nebo monoterapií) proti samotnému sledování.

Další otázkou potom zůstává zařazení imunoterapie do algoritmu terapie lokalizovaných tumorů tlustého střeva, jež zatím prokázalo velmi povzbudivé výsledky u pacientů s prokázanou mikrosatelitovou nestabilitou. Není však zatím jednoznačně zřejmé, zda skupinou vhodnou pro tento typ terapie nebude právě skupina pacientů s vysokým Immunoscore.

Trefoil factor family (TFF) proteins as potential serum biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer.

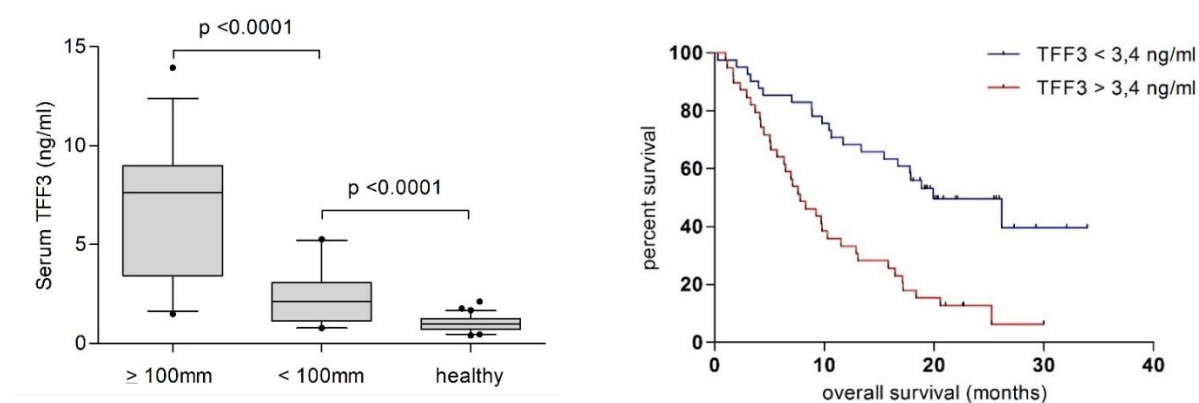
Neoplasma. 2015;62(3):470-7.

Vocka M., Langer D., Petřtyl J., Vockova P., Hanus T., Kalousova M., Zima T., Petruzelka L.

V uvedené studii jsme ve spolupráci s Ústavem lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a IV. interní klinikou 1. LF UK analyzovali potenciální nové diagnostické a prognostické nádorové markery u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem s cílem lépe stratifikovat pacienty dle prognózy a vybrat vhodné kandidáty pro případné radikální resekcí výkony v oblasti jater. Jako kandidátní marker jsme zvolili TFF-3 (trefoil factor 3), sekreční protein z lektinové skupiny produkovaný buňkami střevního epitelu.

Sérové koncentrace TFF-3 (AUC 0,916) prokázaly mírně lepší detekční schopnost ve srovnání se standardními nádorovými markery CEA (AUC 0,905) a CA19-9 (AUC 0,802). Sérové koncentrace TFF-3 významně korelovaly s rozsahem jaterního postižení (Obrázek 11). Vstupní sérová koncentrace TFF-3 korelovala s mediánem celkového přežívání na rozdíl od vstupních sérových hladin CEA a CA19-9. Pacienti se vstupní koncentrací TFF-3 $\leq 3,4$ ng/ml vykazovali medián celkového přežití 19,9 měsíce oproti pacientům s hodnotou $>3,4$ ng/ml, kteří dosáhli mediánu přežití pouze 7,8 měsíce ($p < 0.0001$; Obrázek 11).

Obrázek 11: A – Sérové koncentrace TFF-3 (ng/ml) u pacientů s různou velikostí jaterních metastáz. B – Kaplan-Meierovy křivky celkového přežití u pacientů dle vstupní koncentrace TFF-3.



Pacienti s nízkými sérovými koncentracemi TFF-3 jsou vhodnými kandidáty pro radikální resekcí jaterních metastáz nebo intenzivní indukční terapii s cílem dosáhnout resekability.

Growth/differentiation factor 15 (GDF-15) as new potential serum marker in patients with metastatic colorectal cancer.

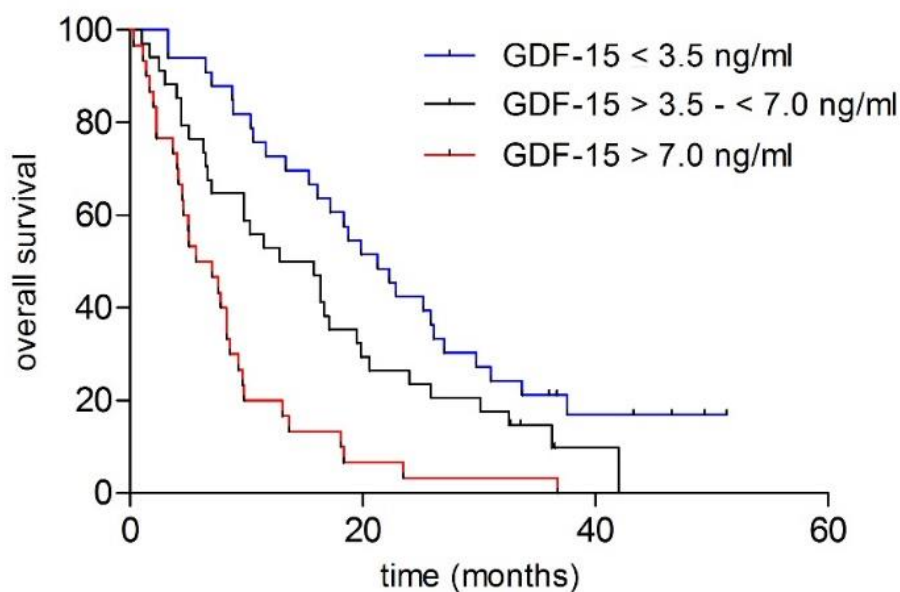
Cancer Biomark. 2018;21(4):869-874.

Vocka M., Langer D., Fryba V., Petryl J., Hanus T., Kalousova M., Zima T., Petruzelka L.

V další publikované studii jsme coby kandidátní marker pro stratifikaci pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem zvolili GDF-15 (growth differentiation factor 15), ligand vážící se na TGFβ receptory a účastníci se reakce tkání na poškození buněk, zánět nebo hypoxii. (Zimmers T. et al, 2005)

Sérové koncentrace GDF-15 vykazovaly u pacientů ve studii dobré predikční charakteristiky. Statisticky významný rozdíl byl zaznamenán u pacientů s ponechaným primárním tumorem střeva či lokální recidivou ($p = 0,035$), metastatickým postižením jater ($p = 0,006$) a plicním postižením ($p = 0,015$). Mezní hodnota byla pro GDF-15 stanovena na 3,5 ng/ml, při které bylo dosaženo sensitivity 71,1 % při specificitě 98,7 % (AUC 0,921). Pacienti se vstupní koncentrací GDF-15 nižší nebo rovnou vypočtené mezní hodnotě 3,5 ng/ml měli medián celkového přežití 20,6 měsíce oproti pacientům s hodnotou v rozmezí 3,5 a 7,0 ng/ml s mediánem 14,6 měsíce ($p = 0.053$) a pacientům s hodnotou vyšší než 7,0 ng/ml s mediánem 6,4 měsíce ($p < 0.001$; [Obrázek 12](#)).

[Obrázek 12](#): Kaplan-Meierovy křivky celkového přežití pacientů dle vstupní koncentrace GDF-15.



Serum levels of TIMP-1 and MMP-7 as potential biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer.

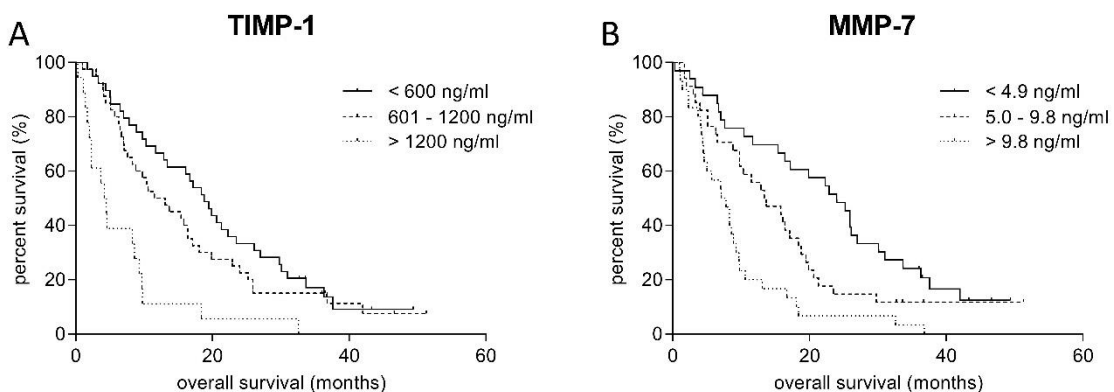
Int J Biol Markers. 2019; 34(3):292-301.

Vocka M., Langer D., Fryba V., Petřtyl J., Hanus T., Kalousova M., Zima T., Petruzelka L.

Dalšími zkoumanými sérovými markery s prokázanou obdobnou senzitivitou a specificitou jako CEA byly tkáňový inhibitor matrixové metaloproteázy 1 (TIMP-1) a matrixová metaloproteáza 7 (MMP 7).

Sérové koncentrace obou markerů významně korelovaly s přítomností primárního tumoru ($p = 0,001$; $p = 0,012$) a metastatického postižení jater ($p = 0,002$; $p = 0,037$) a plic ($p = 0,014$; $p = 0,005$). Jednoznačná souvislost s rozsahem jaterního postižení byla prokázána u obou zmiňovaných markerů ($p < 0,001$; $p = 0,009$). Rozdíl v celkovém přežití byl zaznamenán u pacientů se sérovými koncentracemi TIMP-1 < 600 ng/ml oproti > 1200 ng/ml (18,8 měsíce vs. 4,4 měsíce; $p < 0,001$), stejně jako MMP-7 $< 4,9$ ng/ml oproti $> 9,8$ ng/ml (24,0 měsíce vs. 7,5 měsíce; $p < 0,001$; **obrázek 13**). Kombinace obou zkoumaných parametrů vedla k dalšímu prohloubení rozdílu v celkovém přežití (26,1 vs. 4,6 měsíce; HR = 0,25; 95% CI = 0,11-0,59; $p = 0,002$).

Obrázek 13: Kaplan-Meierovy křivky celkového přežití u pacientů dle vstupní koncentrace TIMP-1 a MMP-7.



Novel serum markers HSP60, CHI3L1, and IGFBP-2 in metastatic colorectal cancer.

Oncol Lett. 2019; 18(6):6284-6292.

Vocka M., Langer D., Fryba V., Petryl J., Hanus T., Kalousova M., Zima T., Petruzelka L.

Jiné sérové markery, jež jsme u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem doposud studovali, představovaly protein teplotního šoku 60 (HSP60), protein podobný chitináze-3 (CHI3L1) a protein vázící insulinový růstový faktor 2 (IGFBP-2).

Sérové koncentrace zkoumaných proteinů se u pacientů s postižením jater významně nelišily. Rozdíl v celkovém přežití byl zaznamenán u HSP60 a IGFB-2, nicméně výrazně méně významný než u TFF-3 a GDF-15. Z pohledu klinického využití se tak trojice biomarkerů HSP60, CHI3L1 a IGFBP-2 jeví jako nejméně využitelná pro stratifikaci rizika.

Stanovení sérových markerů je v současné době dobře dostupné, cena je relativně nízká a materiál pro vyšetření lze získat poměrně snadno. Bohužel jejich mnohdy nižší specifita vede u naprosté většiny z nich k postupnému odklonu od jejich užití v rámci dispenzarizace zdravých pacientů nebo v diagnostice nádorových onemocnění (NCCN guidelines, ASCO guidelines, ESMO guidelines). Zároveň jsou do rutinní praxe zaváděny molekulární analýzy prováděné z nádorové tkáně metodami NGS, řada pracovišť se zabývá stanovením přítomnosti fragmentů nádorové DNA v krvi či zkoumáním cirkulujících nádorových buněk. Jedná se o metody nové, jež často vyžadují dostatečné množství kvalitního biologického materiálu a jsou poměrně finančně i časově náročné, nicméně představují budoucnost diagnostiky a sledování nemocných.

4 ZÁVĚR

V průběhu posledních dvou dekad došlo k dramatické změně celého oboru klinické onkologie. Nové metody molekulární biologie umožnily rychlé a rozsáhlé analýzy germinálních a současně somatických mutací v nádorové tkáni. Znalosti změn přítomných v nádorové tkáni umožnily přípravu preparátů cílících na tyto změny a přechod od léčby „naslepo“ k léčbě v pravém slova smyslu cílené. Přítomnost germinálních mutací v genech dědičné nádorové dispozice umožnila racionalizaci péče o zdravé nosiče se zvýšeným celoživotním rizikem nádorových onemocnění. S rozšiřující se znalostí fungování imunitního systému i hlubším poznáním nádorového mikroprostředí a protinádorové imunity narostl význam imunologie. Po objevení významu proteinů PD-1 a CTLA4 (Ishida Y. et al, 1992; Leach D.R. et al, 1996) navíc v terapii nádorových onemocnění přibyla velmi účinná léčebná možnost – imunoterapie. Navzdory veškerým posunům však zůstává prognóza celé řady nádorových onemocnění stále velmi neutěšená.

Klíčový nástroj prevence představuje analýza predispozičních genů a s nimi souvisejících rizik vzniku nádorového onemocnění, jelikož včas provedené preventivní výkony mohou zcela zabránit vzniku mnohých závažných a obtížně léčitelných onemocnění (např. preventivní salpingoophorektomie v prevenci karcinomu ovaria a tuby). Zároveň přítomnost některých germinálních variant vede k odlišnému biologickému chování nádorových onemocnění (např. hormonálně pozitivní tumory u nosiček BRCA1/BRCA2), které je třeba zohledňovat při volbě terapie a dle možností pak při léčbě využívat kombinaci s cílenou terapií (PARP inhibitory u nosičů mutací v genech homologní rekombinace; Wagener-Ryczek S. et al, 2021) či imunoterapií (mikrosatelitová nestabilita prokázaná v nádorové tkáni, často na podkladě germinálních mutací v genech Lynchova syndromu; Muro K. et al, 2016; O'Neil B.H. et al, 2017; Frenel J.S. et al, 2017; Marabelle A. et al, 2020; Le D.T. et al, 2020).

Dostatečná pozornost by měla být věnována též středně a nízkce penetrantním genům, jejichž význam se sice může zdát relativně malý, přesto správně provedený individualizovaný skrínig může vést k časnému zachytu nádorového onemocnění. Zde je důležité zdůraznit, že význam některých méně penetrantních genů nelze dogmaticky hodnotit na základě velkých mezinárodních konsorcií publikující soubory desítek tisíc pacientů, protože se jedná o soubory geograficky heterogenní populace s velmi odlišnou četností výskytu studovaných nádorů (srov. význam „slovanské mutace“ c.657_661del v genu *NBN*). Naším dlouhodobým cílem je proto

příspět k poznání významu mutací ve středně penetrantních predispozičních genech pro vznik určitých nádorových onemocnění a popsat klinicko-patologické charakteristiky těchto malignit a jejich vliv na prognózu.

V blízké budoucnosti nás velmi pravděpodobně čeká přechod z jednotlivých panelů určených pro diagnostiku dědičných nádorových onemocnění na tzv. celoxomové sekvenování (*whole-exome sequencing*, WES) a celogenomové sekvenování (*whole-genome sequencing*, WGS). Jedná se o vyšetření, jež bude pacientům prováděno jednou za život a dle požadavků konkrétního lékaře bude ze získaných dat možno zjistit dispozici pro nádorová onemocnění, dispozici pro kardiomyopatie, dědičné trombofilie apod. S velkým množstvím zpracovávaných dat však nepochybně nastanou potíže s jejich uchováním a zpracováním, a to jak v rovině přístrojové, tak personální. Zároveň pak vyvstanou zřejmá etická dilemata, jako je právo člověka nevědět, jež může stát v opozici vůči rozumné redukci rizika ze strany plátce zdravotní péče, resp. státu.

Jak bylo výše zmíněno, základem úspěšnosti protinádorové léčby je časná detekce nízkých stádií nádorových onemocnění. Přestože tomuto tématu není věnována dostatečná pozornost, představuje skutečně jednu z nejzásadnějších složek úspěšné protinádorové terapie a zároveň nejvyšší měrou ovlivňuje pacientovy šance na dlouhodobé přežití. S rozvojem technologií přichází nové možnosti založené na laserových a spektroskopických analýzách v reálném čase, kdy lze v průběhu endoskopických vyšetření odlišit benigní a maligní léze. Mimoto se velká pozornost zaměřuje na molekulární vyšetření z krve s cílem zachytit fragmenty nádorové DNA nebo cirkulující nádorové buňky, s větší či menší úspěšností u jednotlivých diagnóz. Přestože jsou uvedené metody náročné na přístrojové vybavení, kvalitu odebraného materiálu či rychlé zpracování vzorku, postupně odsouvají stanovení proteinových markerů v krvi, jejichž koncentrace mohou být modifikovány řadou benigních onemocnění. Význam markerů v rámci sledování pacientů v remisi je čím dál více zpochybňován a vytlačován dostupnějšími a stále přesnějšími zobrazovacími metodami.

I přes dílčí úspěchy v rámci stanovení významu sérových proteinových nádorových markerů se zdá, že budou v diagnostice časem nahrazeny stanovením cirkulující nádorové DNA či nádorových buněk, zobrazovacími metodami, analýzami imunitního systému (buněk, protilátek, cytokinů atd.). Podobně i při rozhodování o léčebném postupu budou především využívány podrobné informace o přítomnosti somatických mutací v nádorových buňkách a

informace o nádorovém mikroprostředí včetně informací o buňkách imunitního systému, o expresi povrchových receptorů a ligandů či o produkci cytokinů.

Příkladem vlivu fungování imunitního systému na rozhodování ohledně terapie je možnost stanovení tumor infiltrujících lymfocytů a jejich jednotlivých subtypů v nádorové tkáni. Immunoscore představuje první validovanou metodu využívající softwarovou kvantifikaci dvou populací lymfocytů v nádorové tkáni a v invazivním okraji u pacientů s karcinomem tlustého střeva a rekta, která je dobře reprodučibilní a jejíž výsledky ukazují, že v porovnání se standardně využívanými faktory včetně TNM klasifikace dokáže s vyšší přesností stanovit riziko návratu nemoci. Bohužel zatím chybí prospektivní klinická studie, jež by podpořila využití tohoto parametru při rozhodování o podání či naopak nepodání adjuvantní terapie. V nejbližší době lze podobné analýzy nádorového mikroprostředí očekávat též u dalších nádorových onemocnění.

Veškeré analýzy nádorové tkáně budou v blízké budoucnosti doplněny o analýzu stavu imunitního systému, která se jistě brzy stane pevnou součástí vstupního vyšetření každého pacienta ještě před zahájením onkologické terapie. Řadu nádorových onemocnění pak bude možno úspěšně léčit bez nutnosti chirurgického zásahu, jak ukazují velmi slibná data neoadjuvantního podání imunoterapie u MSI-high karcinomů rekta (Cercek A. et al, 2022) a řady dalších nádorových onemocnění (Pei F. et al, 2022; Coutzac C. et al, 2022; André T. et al, 2023). Mnohá maligní onemocnění pak bude možno léčit kombinací cílené terapie a inhibitorů kontrolních bodů, případně mimo tělo modifikovanými buňkami imunitního systému či dalšími modulátory imunitní odpovědi.

5 PODĚKOVÁNÍ

Předkládaná práce shrnuje výsledky, na kterých se podílela celá řada výjimečných kolegyň a kolegů z klinických i výzkumných pracovišť, se kterými jsem měl v průběhu let možnost spolupracovat a jejichž jmenný výčet by byl pravděpodobně delší než práce samotná. Na prvním místě bych tedy chtěl poděkovat právě jim za skvělou práci.

Jmenovitě bych pak chtěl velice poděkovat prof. MUDr. Luboši Petruželkovi, CSc., který mi umožnil mou cestu oborem onkologie začít a cestě mě udržel, za praktická témata, podporu v průběhu řady let, za odborný dohled a cenné rady. Dále bych chtěl poděkovat prof. MUDr. Zdeňku Kleiblovi, PhD. za podnětné diskuse, za pomoc při hledání odpovědí na otázky a otázky, které vedly k dalším otázkám, za nekonečnou trpělivost a podporu vždy, když byla třeba.

6 SEZNAM PŘÍLOH

- 1) Lhota F., Zemankova P., Kleiblova P., Soukupova J., **Vocka M.**, Stranecky V., Janatova M., Hartmannova H., Hodanova K., Kmoch S., Kleibl Z. Hereditary truncating mutations of DNA repair and other genes in BRCA1/BRCA2/PALB2-negatively tested breast cancer patients. *Clin Genet.* 2016;90(4):324-33. IF₂₀₁₆ = 3,326
- 2) Soukupova J., Zemankova P., Lhotova K., Janatova M., Borecka M., Stolarova L., Lhota F., Foretova L., Machackova E., Stranecky V., Tavandzis S., Kleiblova P., **Vocka M.**, Hartmannova H., Hodanova K., Kmoch S., Kleibl Z. Validation of CZE CANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) for targeted NGS-based analysis of hereditary cancer syndromes. *PLoS One.* 2018;13(4):e0195761. IF₂₀₁₈ = 2.766
- 3) Borecka M., Zemankova P., **Vocka M.**, Soucek P., Soukupova J., Kleiblova P., Sevcik J., Kleibl Z., Janatova M. Mutation analysis of the PALB2 gene in unselected pancreatic cancer patients in the Czech Republic. *Cancer Genet.* 2016;209(5):199-204. IF₂₀₁₆ = 1,930
- 4) Borecka M., Zemankova P., Lhota F., Soukupova J., Kleiblova P., **Vocka M.**, Soucek P., Ticha I., Kleibl Z., Janatova M. The c.657del5 variant in the NBN gene predisposes to pancreatic cancer. *Gene.* 2016;587(2):169-72. IF₂₀₁₆ = 2,415
- 5) Kleiblova P., Stolarova L., Krizova K., Lhota F., Hojny J., Zemankova P., Havranek O., **Vocka M.**, Cerna M., Lhotova K., Borecka M., Janatova M., Soukupova J., Sevcik J., Zimovjanova M., Kotlas J., Panczak A., Vesela K., Cervenkova J., Schneiderova M., Burocziova M., Burdova K., Stranecky V., Foretova L., Machackova E., Tavandzis S., Kmoch S., Macurek L., Kleibl Z. Identification of deleterious germline CHEK2 mutations and their association with breast and ovarian cancer. *Int J Cancer.* 2019;145(7):1782-1797. IF₂₀₁₉ = 5,145
- 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.* 2020;12(4):956. IF₂₀₂₀ = 6,639

7) **Vocka M.**, Zimovjanova M., Bielicikova Z., Tesarova P., Petruzzelka L., Mateju M., Krizova L., Kotlas J., Soukupova J., Janatova M., Zemankova P., Kleiblova P., Novotny J., Konopasek B., Chodacka M., Brychta M., Sochor M., Smejkalova-Musilova D., Cmejlova V., Kozevnikovova R., Miskarova L., Argalacsova S., Stolarova L., Lhotova K., Borecka M., Kleibl Z. Estrogen Receptor Status Oppositely Modifies Breast Cancer Prognosis in *BRCA1/BRCA2* Mutation Carriers Versus Non-Carriers. *Cancers (Basel)*. 2019;11(6). IF₂₀₁₉ = 6,126

8) 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 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. Prevalence of Germline Pathogenic Variants in Cancer Predisposing Genes in Czech and Belgian Pancreatic Cancer Patients. *Cancers (Basel)*. 2021;13(17):4430. IF₂₀₂₀ = 6,639

9) Miskovicova M., Fryba V., Petruzzelka L., Setnicka V., Synytsya A., Tatarkovic M., Ulrych J., **Vocka M.** Novel spectroscopic biomarkers are applicable in non-invasive early detection and staging classification of colorectal cancer. *Neoplasma*. 2020; 67(6):1349-1358. IF₂₀₂₀ = 2,575

10) Hrabák P., Šoupal J., Kalousová M., Krechler T., **Vočka M.**, Hanuš T., Petruželka L., Svačina Š., Žák A., Zima T. Novel biochemical markers for non-invasive detection of pancreatic cancer. *Neoplasma*. 2022; 69(2):474-483. IF₂₀₂₁ = 3,409

11) Pagès F., Mlecnik B., Marliot F., Bindea G., Ou F.S., Bifulco C., Lugli A., Zlobec I., Rau T.T., Berger M.D., Nagtegaal I.D., Vink-Börger E., Hartmann A., Geppert C., Kolwelter J., Merkel S., Grützmann R., Van den Eynde M., Jouret-Mourin A., Kartheuser A., Léonard D., Remue C., Wang J.Y., Bavi P., Roehrl M.H.A., Ohashi P.S., Nguyen L.T., Han S., MacGregor H.L., Hafezi-Bakhtiari S., Wouters B.G., Masucci G.V., Andersson E.K., Zavadova E., **Vocka M.**, Spacek J., Petruzzelka L., Konopasek B., Dundr P., Skalova H., Nemejcova K., Botti G., Tatangelo F., Delrio P., Ciliberto G., Maio M., Laghi L., Grizzi F., Fredriksen T., Buttard B., Angelova M., Vasaturo A., Maby P., Church S.E., Angell H.K., Lafontaine L., Bruni D., El Sissy C., Haicheur N., Kirilovsky A., Berger A., Lagorce C., Meyers J.P., Paustian C., Feng Z., Ballesteros-Merino C., Dijkstra J., van de Water C., van Lent-van Vliet S., Knijn N., Muşină A.M., Scripcariu D.V., Popivanova B., Xu M., Fujita T., Hazama S., Suzuki N., Nagano H.,

Okuno K., Torigoe T., Sato N., Furuhashi T., Takemasa I., Itoh K., Patel P.S., Vora H.H., Shah B., Patel J.B., Rajvik K.N., Pandya S.J., Shukla S.N., Wang Y., Zhang G., Kawakami Y., Marincola F.M., Ascierto P.A., Sargent D.J., Fox B.A., Galon J. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet*. 2018;391(10135):2128-2139. IF₂₀₁₈ = 59,102

12) Mlecnik B., Bifulco C., Bindea G., Marliot F., Lugli A., Lee J.J., Zlobec I., Rau T.T., Berger M.D., Nagtegaal I.D., Vink-Börger E., Hartmann A., Geppert C., Kolwelter J., Merkel S., Grützmann R., Van den Eynde M., Jouret-Mourin A., Kartheuser A., Léonard D., Remue C., Wang J.Y., Bavi P., Roehrl M.H.A., Ohashi P.S., Nguyen L.T., Han S., MacGregor H.L., Hafezi-Bakhtiari S., Wouters B.G., Masucci G.V., Andersson E.K., Zavadova E., **Vocka M.**, Spacek J., Petruzella L., Konopasek B., Dunder P., Skalova H., Nemejcova K., Botti G., Tatangelo F., Delrio P., Ciliberto G., Maio M., Laghi L., Grizzi F., Fredriksen T., Buttard B., Lafontaine L., Bruni D., Lanzi A., El Sissy C., Haicheur N., Kirilovsky A., Berger A., Lagorce C., Paustian C., Ballesteros-Merino C., Dijkstra J., van de Water C., van Lent-van Vliet S., Knijn N., Muşină A.M., Scripcariu D.V., Popivanova B., Xu M., Fujita T., Hazama S., Suzuki N., Nagano H., Okuno K., Torigoe T., Sato N., Furuhashi T., Takemasa I., Itoh K., Patel P.S., Vora H.H., Shah B., Patel J.B., Rajvik K.N., Pandya S.J., Shukla S.N., Wang Y., Zhang G., Kawakami Y., Marincola F.M., Ascierto P.A., Fox B.A., Pagès F., Galon J. Multicenter International SITC Study of the Consensus Immunoscore for the Prediction of Survival and Response to Chemotherapy in Stage III Colon Cancer. *J Clin Oncol*. 2020;38(31):3638-3651. IF₂₀₂₀ = 44,544

13) Mlecnik B., Torigoe T., Bindea G., Popivanova B., Xu M., Fujita T., Hazama S., Suzuki N., Nagano H., Okuno K., Hirohashi Y., Furuhashi T., Takemasa I., Patel P., Vora H., Shah B., Patel J.B., Rajvik K.N., Pandya S.J., Shukla S.N., Wang Y., Zhang G., Yoshino T., Taniguchi H., Bifulco C., Lugli A., Lee J.J., Zlobec I., Rau T.T., Berger M.D., Nagtegaal I.D., Vink-Börger E., Hartmann A., Geppert C., Kolwelter J., Merkel S., Grützmann R., Van den Eynde M., Jouret-Mourin A., Kartheuser A., Léonard D., Remue C., Wang J., Bavi P., Roehrl M.H.A., Ohashi P.S., Nguyen L.T., Han S., MacGregor H.L., Hafezi-Bakhtiari S., Wouters B.G., Masucci G.V., Andersson E., Zavadova E., **Vocka M.**, Spacek J., Petruzella L., Konopasek B., Dunder P., Skalova H., Nemejcova K., Botti G., Tatangelo F., Delrio P., Ciliberto G., Maio M., Laghi L., Grizzi F., Marliot F., Fredriksen T., Buttard B., Lafontaine L., Maby P., Majdi A., Hijazi A., El Sissy C., Kirilovsky A., Berger A., Lagorce C., Paustian C., Ballesteros-Merino C., Dijkstra J., Van de Water C., van Lent-van Vliet S., Knijn N., Muşină A.M., Scripcariu

D.V., Marincola F.M., Ascierto P.A., Fox B.A., Pagès F., Kawakami Y., Galon J. Clinical Performance of the Consensus Immunoscore in Colon Cancer in the Asian Population from the Multicenter International SITC Study. *Cancers (Basel)*. 2022;14(18):4346. IF₂₀₂₁ = 6,575

14) **Vocka M.**, Langer D., Petrtyl J., Vockova P., Hanus T., Kalousova M., Zima T., Petruzelka L. Trefoil factor family (TFF) proteins as potential serum biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer. *Neoplasma*. 2015;62(3):470-7. IF₂₀₁₅ = 1,961

15) **Vocka M.**, Langer D., Fryba V., Petrtyl J., Hanus T., Kalousova M., Zima T., Petruzelka L. Growth/differentiation factor 15 (GDF-15) as new potential serum marker in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Biomark*. 2018;21(4):869-874. IF₂₀₁₈ = 2,859

16) **Vocka M.**, Langer D., Fryba V., Petrtyl J., Hanus T., Kalousova M., Zima T., Petruzelka L. Serum levels of TIMP-1 and MMP-7 as potential biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer. *Int J Biol Markers*. 2019; 34(3):292-301. IF₂₀₁₉ = 1,746

17) **Vocka M.**, Langer D., Fryba V., Petrtyl J., Hanus T., Kalousova M., Zima T., Petruzelka L. Novel serum markers HSP60, CHI3L1, and IGFBP-2 in metastatic colorectal cancer. *Oncol Lett*. 2019; 18(6):6284-6292. IF₂₀₁₉ = 2,311

7 SEZNAM ZKRATEK

Zkratka	Význam
AAT	protein <u>alpha-1-antitrypsin</u>
AMS-P	pankreatická amyláza (<u>amylase pancreatic</u>)
ATM	gen <u>ataxia telangiectasia mutated</u>
AUC	plocha pod křivkou (<u>area under the curve</u>)
BARD1	gen <u>BRCA1-associated RING domain 1</u>
BRAF	protein kódovaný genem <i>BRAF</i> (B-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase)
BRCA1	gen <u>breast cancer 1, early onset</u>
BRCA2	gen <u>breast cancer 2, early onset</u>
BRIP1	gen <u>BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1</u>)
CA19-9	<u>cluster antigen 19-9</u>
CEA	karcinoembryonální antigen
CDH1	gen <u>Cadherin-1</u>
CDKN2A	gen <u>cyclin-dependent kinase inhibitor 2A</u>
CI	konfidenční interval (<u>confidence interval</u>)
CRC	karcinom kolon nebo rektu (<u>colorectal cancer</u>)
CTLA-4	protein kódovaný genem <i>CTLA-4</i> (<u>cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4</u>)
CYP	gen <u>cytochrom P450</u>
CZECANCA	<u>Czech cancer panel for clinical application</u>
DFS	přežití bez nemoci (<u>Disease free survival</u>)
DNA	kyselina deoxyribonukleová (<u>deoxyribonucleic acid</u>)
DJ-1	protein kódovaný genem <i>PARK7</i> (<u>Parkinsonism associated deglycase</u>)
DSS	nádorově specifické přežití (<u>Disease specific survival</u>)
ECD	elektronový cirkulární dichroismus
EGFR	receptor pro lidský epidermální růstový faktor ErbB-1 čili HER1 (<u>epidermal growth factor receptor</u>)
ER	estrogenový receptor
ERCC4	gen <u>ERCC excision repair 4, endonuclease catalytic subunit</u>
FANCE	gen <u>Fanconi Anemia Complementation Group E</u>
FANCG	gen <u>Fanconi Anemia Complementation Group G</u>
FT-IR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GDF-15	protein <u>Growth/differentiation factor 15</u>
HR	hazard ratio
HR geny	geny homologní rekombinace
HSP27	protein kódovaný genem <i>HSP27</i> (<u>Heat shock protein 27</u>)
HSP60	protein kódovaný genem <i>HSP60</i> (<u>Heat shock protein 60</u>)
CHEK2	gen pro <u>checkpoint kinase 2</u>
CHI3L1	protein kódovaný genem <i>CHI3L1</i> (<u>Chitinase-3-like protein 1</u>)
IGF-1	protein kódovaný genem <i>IGF-1</i> (<u>insulin-like growth factor 1</u>)

IGF-2	protein kódovaný genem <i>IGF-2</i> (insulin-like growth factor 2)
IGFBP-2	protein kódovaný genem <i>IGFBP-2</i> (insulin-like growth factor binding protein 2)
K-RAS	protein kódovaný genem <i>Kras</i> (<u>K</u> rat sarcoma oncogene)
LR	logistic regression
LU	lymfatická uzlina
<i>MLH1</i>	gen <u>M</u> ut <u>L</u> homolog 1
<i>MMP7</i>	protein genem <i>MMP7</i> (<u>m</u> atrix <u>m</u> etalloproteinase 7)
<i>MRE11</i>	protein MRE11
MSI	<u>m</u> ikro <u>s</u> atelitová <u>i</u> nstabilita
MSS	<u>m</u> ikro <u>s</u> atelitová <u>s</u> tabilita
<i>NAT1</i>	gen <u>N</u> - <u>a</u> cetyltransferase 1
<i>NBN</i>	gen <u>n</u> ibrin čili <i>NBS1</i> (<u>N</u> ijmegen <u>b</u> reakage <u>s</u> yndrome 1)
NGS	<u>n</u> ext-generation <u>s</u> equencing
mOS	medián celkové přežití (median of overall survival)
<i>MSH-2</i>	gen <u>M</u> ut <u>S</u> Homolog 2
<i>MSH-6</i>	gen <u>M</u> ut <u>S</u> Homolog 6
N-RAS	protein kódovaný genem <i>Nras</i> (<u>N</u> rat sarcoma oncogene)
OC	karcinom vaječníku a tuby (ovarian cancer)
OR	Odds ratio
<i>p</i>	hodnota <i>p</i>
<i>PALB2</i>	gen <u>P</u> artner and <u>L</u> ocaliser of <u>B</u> RCA2
PARPi	inhibitory poly(<u>A</u> D <u>P</u> -ribose)polymerázy
PD-1	receptor programované smrti 1 (programed cell death 1)
PDAC	duktální adenokarcinom pankreatu (pancreatic ductal adenocarcinoma)
<i>POLE</i>	gen DNA polymerase epsilon, catalytic subunit
<i>PPM1D</i>	gen protein phosphatase, <u>M</u> g ²⁺ / <u>M</u> n ²⁺ dependent 1 <u>D</u>
<i>PRSS1</i>	gen serine protease 1
<i>PTEN</i>	gen phosphatase and tensin homolog)
<i>RAD50</i>	protein kódovaný genem <i>RAD50</i> (<u>R</u> adiation sensitive 50)
<i>RAD51C</i>	gen radiation sensitive 51 <u>C</u>
<i>RAD51D</i>	gen radiation sensitive 51 <u>D</u>
Reg3A	protein kódovaný genem <i>Reg3A</i> (<u>r</u> egenerating family member 3 <u>a</u> lpha)
ROA	Ramanova optická aktivita
ROC	receiver operating characteristic curve
RF	random forest analysis
RR	relativní riziko
<i>S100P</i>	protein kódovaný genem <i>S100P</i> (<u>S</u> 100 Calcium Binding Protein <u>P</u>)
<i>S100A11</i>	protein kódovaný genem <i>S100A11</i> (<u>S</u> 100 Calcium Binding Protein <u>A</u> 11)
SAA	protein sérový amyloid <u>A</u>
<i>SHPRH</i>	gen <u>S</u> NF2 histone linker <u>P</u> HD <u>R</u> ING <u>h</u> elicase

SNV	jednonukleotidové záměny (<u>s</u> ingle <u>n</u> ucleotid <u>v</u> ariation)
SOLiD	sekvenování oligonukleotidovou liagací a detcí (<u>S</u> equencing by <u>O</u> ligonucleotide <u>L</u> igation and <u>D</u> etection)
<i>STK11</i>	gen <u>S</u> erine/ <u>T</u> hreonine <u>K</u> inase <u>11</u>
TFF	<u>t</u> refoil <u>f</u> actor <u>f</u> amily
TGFβ	<u>t</u> ransforming <u>g</u> rowth <u>f</u> actor <u>β</u>
TNM	klasifikace nádorů podle tumoru, uzlin a metastáz (<u>t</u> umor, <u>n</u> odi, <u>m</u> etastasis)
TIL	<u>t</u> umor <u>i</u> nfiltrující <u>l</u> ymfocyty
TIMP1	protein kódovaný genem <i>TIMP1</i> (<u>t</u> issue <u>i</u> nhibitor of <u>m</u> etalloproteinasis <u>1</u>)
TP	celková bílkovina (<u>t</u> otal <u>p</u> rotein)
<i>TP53</i>	gen <u>t</u> umor <u>p</u> rotein <u>53</u>
VELIPI	<u>v</u> ascular <u>e</u> mboli, <u>l</u> ymphatic <u>i</u> nvasion, and <u>p</u> erineural <u>i</u> nvasion
VUS	varianty nejasného významu (<u>v</u> ariants of <u>u</u> ncertain <u>s</u> ignificance)
WES	celoexomové sekvenování (<i>whole-exome sequencing</i>)
WGS	celogenomové sekvenování (<u>w</u> hole- <u>g</u> enome sequencing)
ZN	zhoubný <u>n</u> ovotvar

8 LITERATURA

- André T., Boni C., Mounedji-Boudiaf L., et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med.* 2004; 350:2343–2351. doi: 10.1056/NEJMoa032709.
- André T., Tougeron D., Piessen G., et al. Neoadjuvant Nivolumab Plus Ipilimumab and Adjuvant Nivolumab in Localized Deficient Mismatch Repair/Microsatellite Instability-High Gastric or Esophagogastric Junction Adenocarcinoma: The GERCOR NEONIPIGA Phase II Study. *J Clin Oncol.* 2023; 41(2):255-265. doi: 10.1200/JCO.22.00686.
- Aoude LG, Xu M, Zhao ZZ, et al. Assessment of *PALB2* as a candidate melanoma susceptibility gene. *PLoS One.* 2014; 9(6):e100683. doi: 10.1371/journal.pone.0100683.
- Auclin E., Zaanan A., Vernerey D., et al. Subgroups and prognostication in stage III colon cancer: Future perspectives for adjuvant therapy. *Ann Oncol.* 2017; 28:958–968. doi: 10.1093/annonc/mdx030.
- Baretta Z., Mocellin S., Goldin E, et al. Effect of BRCA germline mutations on breast cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine* 2016; 95(40):e4975. doi: 10.1097/MD.0000000000004975.
- Benzel J., Fendrich V. Familial Pancreatic Cancer. *Oncol. Res. Treat.* 2018; 41(10):611–618. doi: 10.1159/000493473.
- Borecka M., Zemankova P., Lhota F., et al. The c.657del5 variant in the NBN gene predisposes to pancreatic cancer. *Gene.* 2016; 587(2):169-72. doi: 10.1016/j.gene.2016.04.056.
- Borecka M., Zemankova P., Vocka M., et al. Mutation analysis of the *PALB2* gene in unselected pancreatic cancer patients in the Czech Republic. *Cancer Genet.* 2016; 209(5):199-204. doi: 10.1016/j.cancergen.2016.03.003.
- Carney J.P., Maser R.S., Olivares H., et al. The hMre11/hRad50 protein complex and Nijmegen breakage syndrome: linkage of double-strand break repair to the cellular DNA damage response. *Cell.* 1998; 93(3):477-86. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81175-7.
- Carter N.J., Marshall M.L., Susswein L.R., et al. Germline pathogenic variants identified in women with ovarian tumors. *Gynecol. Oncol.* 2018; 151(3):481–488. doi: 10.1016/j.ygyno.2018.09.030.
- Cercek A., Lumish M., Sinopoli J., et al. PD-1 Blockade in Mismatch Repair-Deficient, Locally Advanced Rectal Cancer. *N Engl J Med.* 2022; 386(25):2363-2376. doi: 10.1056/NEJMoa2201445.
- Claes K., Poppe B., Coene I., et al. *BRCA1* and *BRCA2* germline mutation spectrum and frequencies in Belgian breast/ovarian cancer families. *Br J Cancer.* 2004; 90(6):1244-51. doi: 10.1038/sj.bjc.6601656.

- Copson E.R., Maishman T.C., Tapper W.J., et al. Germline BRCA mutation and outcome in young-onset breast cancer (POSH): A prospective cohort study. *Lancet Oncol.* 2018; 19(2):169–180. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30891-4.
- Coutzac C., Bibeau F., Abdelghani M.B., et al. Immunotherapy in MSI/dMMR tumors in the perioperative setting: The IMHOTEP trial. *Dig Liver Dis.* 2022; 54(10):1335-1341. doi: 10.1016/j.dld.2022.07.008.
- Daly M.B., Pilarski R., Berry M., et al. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2021. *J Natl Compr Canc Netw.* 2021; 19(1):77-102. doi: 10.6004/jnccn.2021.0001.
- Das N.K., Dai Y., Liu P. et al. Biomedical applications of multimodal Raman spectroscopy. *Sensors (Basel)* 2017; 17(7):1592. doi: 10.3390/s17071592.
- Domchek S.M., Friebel T.M., Neuhausen S.L., et al. Mortality after bilateral salpingo-oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: A prospective cohort study. *Lancet Oncol.* 2006; 7(3):223-9. doi: 10.1016/S1470-2045(06)70585-X.
- Engstrand J., Nilsson H., Strömberg C., et al. Colorectal cancer liver metastases - a population-based study on incidence, management and survival. *BMC Cancer.* 2018; 18(1):78. doi: 10.1186/s12885-017-3925-x.
- Erkko H., Xia B., Nikkilä J., et al. A recurrent mutation in *PALB2* in Finnish cancer families. *Nature.* 2007; 446(7133):316-9. doi: 10.1038/nature05609.
- Espenschied C., Kleiblova P., Richardson M., et al. Classifying variants in the *CHEK2* gene: the importance of collaboration. *Eur J Cancer* 2017; 72:S25. doi: 10.1016/S0959-8049(17)30161-2.
- Frenel J.S., Le Tourneau C., O'Neil B., et al. Safety and Efficacy of Pembrolizumab in Advanced, Programmed Death Ligand 1-Positive Cervical Cancer: Results From the Phase Ib KEYNOTE-028 Trial. *J Clin Oncol.* 2017; 35(36):4035-4041. doi: 10.1200/JCO.2017.74.5471.
- Fridman W.H., Pagès F., Sautès-Fridman C., Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer.* 2012; 12(4):298-306. doi: 10.1038/nrc3245.
- Galon J., Costes A., Sanchez-Cabo F., et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science.* 2006; 313(5795):1960-4. doi: 10.1126/science.1129139.
- Galon J., Mlecnik B., Bindea G., et al. Towards the introduction of the 'Immunoscore' in the classification of malignant tumours. *J Pathol.* 2014; 232(2):199-209. doi: 10.1002/path.4287.
- Goggins M., Overbeek K.A., Brand R., et al. Management of patients with increased risk for familial pancreatic cancer: Updated recommendations from the International Cancer of the

- Pancreas Screening (CAPS) Consortium. *Gut* 2020; 69(1):7–17. doi: 10.1136/gutjnl-2019-319352.
- Goldstein J.B., Zhao L., Wang X., et al. Germline DNA Sequencing Reveals Novel Mutations Predictive of Overall Survival in a Cohort of Patients with Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res.* 2020; 26(6):1385-1394. doi: 10.1158/1078-0432.
- Górski B., Debniak T., Masojć B., et al. Germline 657del5 mutation in the *NBS1* gene in breast cancer patients. *Int J Cancer.* 2003; 106(3):379-81. doi: 10.1002/ijc.11231.
- Hackl C., Neumann P., Gerken M., et al. Treatment of colorectal liver metastases in Germany: a ten-year population-based analysis of 5772 cases of primary colorectal adenocarcinoma. *BMC Cancer.* 2014; 14:810. doi: 10.1186/1471-2407-14-810.
- Hata T., Mizuma M., Motoi F., et al. Germline DNA damage repair gene mutations in pancreatic cancer patients with personal/family histories of pancreas/breast/ovarian/prostate cancer in a Japanese population. *Ann Gastroenterol Surg.* 2021; 5(6):853-864. doi: 10.1002/ags3.12482.
- Hauke J., Horvath J., Groß E., et al. Gene panel testing of 5589 *BRCA1/2*-negative index patients with breast cancer in a routine diagnostic setting: results of the German Consortium for Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *Cancer Med.* 2018; 7(4):1349-1358. doi: 10.1002/cam4.1376.
- Hrabak P., Soupal J., Kalousova M., et al. Novel biochemical markers for non-invasive detection of pancreatic cancer. *Neoplasma.* 2022; 69(2):474-483. doi: 10.4149/neo_2022_210730N1075.
- Chrabaszcz S., Rajeev R., Witmer H.D.D., et al. A Systematic Review of Conversion to Resectability in Unresectable Metastatic Colorectal Cancer Chemotherapy Trials. *Am J Clin Oncol.* 2022; 45(8):366.
- Ishida Y., Agata Y., Shibahara K., Honjo, T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J.* 1992; 11(11):3887-95. doi: 10.1002/j.1460-2075.1992.tb05481.x.
- Janatova M., Kleibl Z., Stribrna J., et al. The *PALB2* gene is a strong candidate for clinical testing in *BRCA1*- and *BRCA2*-negative hereditary breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013; 22(12):2323-32. doi: 10.1158/1055-9965.
- Kleiblova P., Stolarova L., Krizova K., et al. Identification of deleterious germline *CHEK2* mutations and their association with breast and ovarian cancer. *Int J Cancer.* 2019; 145(7):1782-1797. doi: 10.1002/ijc.32385.
- Koczkowska M., Krawczynska N., Stukan M., et al. Spectrum and Prevalence of Pathogenic Variants in Ovarian Cancer Susceptibility Genes in a Group of 333 Patients. *Cancers (Basel)* 2018; 10(11):442. doi: 10.3390/cancers10110442.

- Kral J., Kojecky V., Stepan M., et al. The experience with colorectal cancer screening in the Czech Republic: the detection at earlier stages and improved clinical outcomes. *Public Health*. 2020; 185:153-158. doi: 10.1016/j.puhe.2020.05.021.
- Krivokuca A., Boljevic I., Jovandic S., et al. Germline mutations in cancer susceptibility genes in high grade serous ovarian cancer in Serbia. *J. Hum. Genet.* 2019; 64(4):281-290. doi: 10.1038/s10038-019-0562-z.
- Laghi L., Bianchi P., Miranda E., et al. CD3+ cells at the invasive margin of deeply invading (pT3-T4) colorectal cancer and risk of post-surgical metastasis: a longitudinal study. *Lancet Oncol.* 2009; 10(9):877-84. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70186-X.
- Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, et al. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *J Clin Oncol.* 2020 Jan 1;38(1):11-19. doi: 10.1200/JCO.19.02107.
- Leach D. R., Krummel M. F., Allison J. P. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science.* 1996; 271(5256):1734-6. doi: 10.1126/science.271.5256.1734.
- Lhota F., Zemankova P., Kleiblova P., et al. Hereditary truncating mutations of DNA repair and other genes in BRCA1/BRCA2/PALB2-negatively tested breast cancer patients. *Clin Genet.* 2016; 90(4):324-33. doi: 10.1111/cge.12748.
- Lhotova K., Stolarova L., Zemankova P., et al. Multigene Panel Germline Testing of 1333 Czech Patients with Ovarian Cancer. *Cancers.* 2020; 12(4):956. doi: 10.3390/cancers12040956.
- Lilyquist J., LaDuca H., Polley E., 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):375-380. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.08.030.
- Llach J., Carballal S.; Moreira L. Familial Pancreatic Cancer: Current Perspectives. *Cancer Manag. Res.* 2020, 12:743–758. doi: 10.2147/CMAR.S172421.
- Lu H.M., Li S., Black M.H., et al. Association of Breast and Ovarian Cancers With Predisposition Genes Identified by Large-Scale Sequencing. *JAMA Oncol.* 2019; 5(1):51-57. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.2956.
- Maisonneuve P., Lowenfels A.B. Epidemiology of pancreatic cancer: an update. *Dig Dis.* 2010; 28(4-5):645-56. doi: 10.1159/000320068.
- Majek O., Danes J., Skovajsova M., et al. Breast cancer screening in the Czech Republic: time trends in performance indicators during the first seven years of the organised programme. *BMC Public Health.* 2011; 11:288. doi: 10.1186/1471-2458-11-288.
- Marabelle A., Le D.T., Ascierto P.A., et al. Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. *J Clin Oncol.* 2020; 38(1):1-10. doi: 10.1200/JCO.19.02105.

- Mateju M., Kleiblova P., Kleibl Z., et al. Germline mutations 657del5 and 643C>T (R215W) in *NBN* are not likely to be associated with increased risk of breast cancer in Czech women. *Breast Cancer Res Treat.* 2012; 133(2):809-11. doi: 10.1007/s10549-012-2049-x.
- Miskovicova M., Fryba V., Petruzelka L., et al. Novel spectroscopic biomarkers are applicable in non-invasive early detection and staging classification of colorectal cancer. *Neoplasma.* 2020; 67(6):1349-1358. doi: 10.4149/neo_2020_200506N494.
- Mlecnik B., Bifulco C., Bindea G., et al. Multicenter International SITC Study of the Consensus Immunoscore for the Prediction of Survival and Response to Chemotherapy in Stage III Colon Cancer. *J Clin Oncol.* 2020; 38(31):3638-3651. doi: 10.1200/JCO.19.03205.
- Mlecnik B., Torigoe T., Bindea G., et al. Clinical Performance of the Consensus Immunoscore in Colon Cancer in the Asian Population from the Multicenter International SITC Study. *Cancers (Basel).* 2022; 14(18):4346. doi: 10.3390/cancers14184346.
- Mlecnik B., Tosolini M., Kirilovsky A., et al. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction. *J Clin Oncol.* 2011; 29(6):610-8. doi: 10.1200/JCO.2010.30.5425.
- Muro K., Chung H.C., Shankaran V., et al. Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial. *Lancet Oncol.* 2016; 17(6):717-726. doi: 10.1016/S1470-2045(16)00175-3.
- Ondrusova M., Muzik J., Durdik S., Ondrus D. Long-term trends in the development of the epidemiology of breast cancer in the Slovak and Czech Republic with reference to applied screening and international comparisons. *Neoplasma.* 2012; 59(1):70-8. doi: 10.4149/neo_2012_009.
- O'Neil B.H., Wallmark J.M., Lorente D., et al. Safety and antitumor activity of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab in patients with advanced colorectal carcinoma. *PLoS One.* 2017; 12(12):e0189848. doi: 10.1371/journal.pone.0189848.
- Pagès F., Mlecnik B., Marliot F., et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet.* 2018; 391(10135):2128-2139. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30789-X.
- Pazderová N., Urbán V., Makovník M., et al. Complete Response to Chemotherapy in Metastatic Pancreatic Carcinoma Associated with Double Heterozygous Germline Mutation in *BRCA2* and *CHEK2* Genes - a Case Report. *Klin Onkol.* 2020; 33(3):220-225. doi: 10.14735/amko2020220.
- Pei F., Wu J., Zhao Y., et al. Single-Agent Neoadjuvant Immunotherapy With a PD-1 Antibody in Locally Advanced Mismatch Repair-Deficient or Microsatellite Instability-High Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2022; S1533-0028(22)00127-X. doi: 10.1016/j.clcc.2022.11.004.

- Pohlreich P., Stríbrná J., Kleibl Z., et al. Mutations of the *BRCA1* gene in hereditary breast and ovarian cancer in the Czech Republic. *Med Princ Pract.* 2003; 12(1):23-9. doi: 10.1159/000068163.
- Pohlreich P., Zikan M., Stribrna J., et al. High proportion of recurrent germline mutations in the *BRCA1* gene in breast and ovarian cancer patients from the Prague area. *Breast Cancer Res.* 2005; 7(5):R728-36. doi: 10.1186/bcr1282
- Ramus S.J., Song H., Dicks E., et al. Germline Mutations in the *BRIP1*, *BARD1*, *PALB2*, and *NBN* Genes in Women With Ovarian Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2015; 107(11):djv214. doi: 10.1093/jnci/djv214.
- Scarà S., Bottoni P., Scatena R. CA 19-9: Biochemical and Clinical Aspects. In: Scatena R. (eds) *Advances in Cancer Biomarkers. Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2015, vol 867. Springer, Dordrecht. doi: 10.1007/978-94-017-7215-0_15
- Soukupova J., Zemankova P., Lhotova K., 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):e0195761. doi: 10.1371/journal.pone.0195761.
- Soukupová J, Zemánková P, Kleiblová P, et al. CZE CANCA: 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):S46-54. doi: 10.14735/amko2016s46.
- Suchanek S., Majek O., Vojtechova G., et al. Colorectal cancer prevention in the Czech Republic: time trends in performance indicators and current situation after 10 years of screening. *Eur J Cancer Prev.* 2014; 23(1):18-26. doi: 10.1097/CEJ.0b013e328364f203.
- Tatarkovič M., Miškovičová M., Šťovíčková L., et al. The potential of chiroptical and vibrational spectroscopy of blood plasma for the discrimination between colon cancer patients and the control group. *Analyst.* 2015;140(7):2287-93. doi: 10.1039/c4an01880j.
- Ticha I., Kleibl Z., Stribrna J., et al. Screening for genomic rearrangements in *BRCA1* and *BRCA2* genes in Czech high-risk breast/ovarian cancer patients: high proportion of population specific alterations in *BRCA1* gene. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 124(2):337-47. doi: 10.1007/s10549-010-0745-y.
- Twelves C., Wong A., Nowacki M.P., et al. Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer. *N Engl J Med.* 2005; 352(26):2696–2704. doi: 10.1056/NEJMoa043116.
- Uson P.L.S. Jr., Samadder N.J., Riegert-Johnson D., et al. Clinical Impact of Pathogenic Germline Variants in Pancreatic Cancer: Results From a Multicenter, Prospective, Universal Genetic Testing Study. *Clin Transl Gastroenterol.* 2021; 12(10):e00414. doi: 10.14309/ctg.0000000000000414.
- Van den Broek A.J., Schmidt M.K., van 't Veer L.J. et al. Worse breast cancer prognosis of *BRCA1/BRCA2* mutation carriers: what's the evidence? A systematic review with meta-analysis. *PLoS One* 2015; 10(3):e0120189. doi: 10.1371/journal.pone.0120189.

- van der Geest L.G., Lam-Boer J., Koopman M., et al. Nationwide trends in incidence, treatment and survival of colorectal cancer patients with synchronous metastases. *Clin Exp Metastasis*. 2015; 32:457–465. doi: 10.1007/s10585-015-9719-0.
- Vocka M., Analýza prognostických znaků u pacientů s karcinomem prsu a kolorektálním karcinomem. [Analysis of prognostic features in patients with breast cancer and colorectal cancer]. Praha, 2019. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Onkologická klinika. Vedoucí závěrečné práce Petruželka, Luboš.
- Vocka M., Langer D., Petrtyl J., et al. Trefoil factor family (TFF) proteins as potential serum biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer. *Neoplasma*. 2015; 62(3):470-7. doi: 10.4149/neo_2015_056.
- Vocka M., Langer D., Fryba V., et al. Growth/differentiation factor 15 (GDF-15) as new potential serum marker in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Biomark*. 2018; 21(4):869-874. doi: 10.3233/CBM-170792.
- Vocka M., Langer D., Fryba V., et al. Serum levels of TIMP-1 and MMP-7 as potential biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer. *Int J Biol Markers*. 2019; 34(3):292-301. doi: 10.1177/1724600819866202.
- Vocka M., Langer D., Fryba V., et al. Novel serum markers HSP60, CHI3L1, and IGFBP-2 in metastatic colorectal cancer. *Oncol Lett*. 2019; 18(6):6284-6292. doi: 10.3892/ol.2019.10925.
- Vocka M., Zimovjanova M., Bielikova Z., et al. Estrogen Receptor Status Oppositely Modifies Breast Cancer Prognosis in BRCA1/BRCA2 Mutation Carriers Versus Non-Carriers. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(6). doi: 10.3390/cancers11060738.
- Wagener-Ryczek S., Merkelbach-Bruse S., Siemanowski J. Biomarkers for Homologous Recombination Deficiency in Cancer. *J Pers Med*. 2021; 11(7):612. doi: 10.3390/jpm11070612.
- Walsh T., Casadei S., Lee M.K., et al. Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011; 108(44):18032-7. doi: 10.1073/pnas.1115052108.
- Wieme G., Kral J., Rosseel T., et al. Prevalence of Germline Pathogenic Variants in Cancer Predisposing Genes in Czech and Belgian Pancreatic Cancer Patients. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(17):4430. doi: 10.3390/cancers13174430.
- Young E.L., Feng B.J., Stark A.W., et al. Multigene testing of moderate-risk genes: be mindful of the missense. *J Med Genet*. 2016; 53(6):366-76. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103398.
- Yothers G., O'Connell M.J., Allegra C.J., et al. Oxaliplatin as adjuvant therapy for colon cancer: Updated results of NSABP C-07 trial, including survival and subset analyses. *J Clin Oncol*. 2011; 29:3768–3774. doi: 10.1200/JCO.2011.36.4539.
- Zikan M., Pohlreich P., Stribrna J., et al. Novel complex genomic rearrangement of the *BRCA1* gene. *Mutat Res*. 2008 ; 637(1-2):205-8. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2007.08.002.

Zimmers T., et al., Growth differentiation factor-15/ macrophage inhibitory cytokine-1 induction after kidney and lung injury. Shock. 2005 Jun;23(6):543-8.

9 PŘÍLOHY – vybrané publikované práce *in extenso*