

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Lynchův syndrom – etiologie, diagnostika a léčba

Vedoucí bakalářské práce: Hosnedlová Božena, Ing. *et* Ing., Ph.D.

Autor: Dominika Maršíková

České Budějovice, 2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Dominika MARŠÍKOVÁ**

Osobní číslo: **Z13269**

Studijní program: **B4131 Zemědělství**

Studijní obor: **Agroekologie**

Název tématu: **Lynchův syndrom - etiologie, diagnostika a léčba**

Zadávací katedra: **Katedra zootechnických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Lynchův syndrom (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom, HNPCC) je dědičné onemocnění s autozomálně dominantním typem dědičnosti s vysokou penetrancí, při kterém dochází k časnému rozvoji kolorektálního karcinomu, endometriálního karcinomu a dalších malignit. Molekulárním podkladem je v převážné většině případů mutace mutátorových genů, jedna varianta je způsobena mutací pro cytokinový receptor. Incidence tohoto onemocnění je poměrně vysoká: 1 : 2000 až 1 : 550.

Cílem bakalářské práce je zpracovat literární přehled zabývající se nejnovějšími poznatky o Lynchově syndromu. Bakalářská práce bude zpracována formou rešerše a bude reflektovat recentní poznatky z tuzemských i zahraničních recenzovaných publikací.

V literární studii uveďte charakteristiku a klinický obraz onemocnění, zmiňte se o jeho dosud popsaných molekulárních variantách (zejm. mutaci genu *MSH2*, *MLH1*, *PMS2*, *MSH6*, *MLH3* a mutaci genu pro receptor typu 2 pro *TGFβ*), o současných možnostech diagnostiky a terapie.

Rozsah grafických prací: dle požadavků vedoucího práce

Rozsah pracovní zprávy: 30 - 40 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

Frolova A.I., Babb S.A., Zantow E., Hagemann A.R., Powell M.A., Thaker P.H., Gao F., Mutch D.G., 2015. Impact of an immunohistochemistry-based universal screening protocol for Lynch syndrome in endometrial cancer on genetic counseling and testing. *Gynecol Oncol*, Jan 21. pii: S0090-8258(15)00539-9.

Lamba A.R., Moore A.Y., Moore T., Rhees J., Arnold M.A., Richard Boland C., 2015. Defective DNA mismatch repair activity is common in sebaceous neoplasms, and may be an ineffective approach to screen for Lynch syndrome. *Fam Cancer*, Feb 1.

Lynch H.T., Snyder C.L., Shaw T.G., Heinen C.D., Hitchins M.P., 2015. Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat Rev Cancer*, Feb 12.

Syngal S., Brand R.E., Church J.M., Giardiello F.M., Hampel H.L., Burt R.W., 2015. ACG Clinical Guideline: Genetic Testing and Management of Hereditary Gastrointestinal Cancer Syndromes. *Am J Gastroenterol*, Feb;110(2):223-62.

Vedoucí bakalářské práce: Ing. et Ing. Božena Hosnedlová, Ph.D.

Katedra zootechnických věd

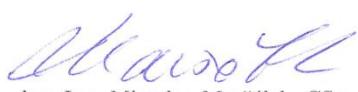
Datum zadání bakalářské práce: 30. března 2015

Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2016

JIHOČESKÁ UNIVERZITA 
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentůvé 1868, 370 05 České Budějovice


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

L.S.


doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 30. března 2015

Prohlášení:

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě- v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

České Budějovice, duben 2016

.....
Dominika Maršíková

Poděkování:

Děkuji vedoucí práce Hosnedlové Boženě, Ing. *et* Ing. Ph.D., za odborné vedení, cenné rady a připomínky při zpracovávání této práce.

Obsah

1 Úvod.....	9
2 Cíl.....	10
3 Literární přehled.....	11
3.1 Historie.....	11
3.2 Klinické rysy Lynchova syndromu.....	12
3.2.1 Základní poznatky o Lynchově syndromu	12
3.2.2 Standardizované klinické pokyny pro diagnostiku Lynchova syndromu	13
3.2.3 Kritéria k indikaci k vyšetření genů MMR systému	14
3.2.4 Fenotypové spektrum	15
3.2.5 Mikrosatelitní nestabilita	16
3.2.6 Patologické vlastnosti nádorů spojených s Lynchovým syndromem.....	17
3.3 Molekulární genetika	18
3.3.1 Identifikace MMR genů z hlediska etiologie LS	18
3.3.2 Mutace v MMR genech.....	20
3.3.3 Možné příčiny Lynchova syndromu	21
3.3.4 Funkce MMR v buňkách.....	22
3.3.5 Vývoj rakoviny	23
3.3.6 Genetická heterogenita MMR genů	25
3.4 Diagnostika.....	26
3.4.1 Úskalí v určení diagnózy	26
3.4.2 Genetické poradenství	30
3.4.3 Informování pacientů o genetickém testování	31
3.4.4 Klinický dohled.....	32
3.5 Terapie	32
3.5.1 Chirurgická terapie.....	32
3.5.2 Chemoprevence	35
3.5.3 Chemická léčba.....	36
3.6 Preventivní léčba	37
3.7 Incidence	38
3.8 Shrnutí molekulárních variant LS.....	42
3.8.1 <i>MLH1</i>	42
3.8.2 <i>MSH2</i>	42
3.8.3 <i>PMS2</i>	43
3.8.4 <i>MSH6</i>	43

3.8.5	<i>MLH3</i>	44
3.8.6	<i>TGFBR2</i>	44
3.9	Závěr	46
4	Seznam použité literatury	47
4.1	Seznam literatury	47
4.2	Seznam obrázků a jejich zdrojů	59
4.3	Seznam tabulek a jejich zdrojů	60
4.4	Seznam grafů a jejich zdrojů	61
5	Seznam vybraných zkratk	62

Abstrakt

Lynchův syndrom (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom, HNPCC) je dědičné onemocnění s autozomálně dominantním typem dědičnosti s vysokou penetrancí, při kterém dochází k časnému rozvoji kolorektálního karcinomu, endometriálního karcinomu a dalších malignit. Onemocnění je způsobeno zárodečnými mutacemi genů *MLH1*, *MSH2*, *PMS2*, *MSH6*, *MLH3* a *TGFBR2*. Diagnostika onemocnění zahrnuje Amsterdamská kritéria a genetická testování. Terapie probíhá formou chirurgickou, chemoprevencí a chemickou léčbou. Incidence Lynchova syndromu je poměrně vysoká: 1 : 2000 až 1 : 660.

Klíčová slova: Lynchův syndrom; zárodečné mutace; Amsterdamská kritéria; genetická testování

Abstract

Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC) is an inherited disease with an autosomal dominant pattern of inheritance with high penetrance leading to an early development of colorectal cancer, endometrial cancer and other malignancies. This disease is caused by germline mutations of genes *MLH1*, *MSH2*, *PMS2*, *MSH6*, *MLH3* and *TGFBR2*. Diagnosis of this disease includes Amsterdam Criteria and genetic testing. Therapy takes place by surgical, chemoprevention and chemical medication. The incidence of Lynch syndrome is relatively high: 1:2000 up to 1:660.

Keywords: Lynch syndrome; germline mutations; Amsterdam Criteria; genetic testing

1 Úvod

Lynchův syndrom (LS) - (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom, HNPCC) je onemocnění s autozomálně dominantním typem dědičnosti. Jedná se o nejčastější příčinu familiárního výskytu kolorektálního karcinomu (CRC) s molekulárně známým genetickým podkladem.

Původem je germinální mutace některých z genů kódujících MMR proteiny, které opravují chyby ve struktuře DNA vznikající při její replikaci. Tyto mutace vyvolávají dysfunkci opravného komplexu, vedoucí k vývoji nestability mikrosatelitů (MSI) a postupnému vzniku nádorů, převážně kolorektálního karcinomu.

Na základě LS vzniká s největší pravděpodobností až 5 % CRC. Oproti familiární adenomatózní polypóze (FAP) není tento syndrom charakterizován výskytem mnohočetných adenomových polypů, ale to neznamená, že se určité množství polypů (do 100 polypů) vyskytovat nemůže. Dalším důležitým znakem Lynchova syndromu je nepřítomnost „premorbidního fenotypu“. Premorbidní fenotyp je charakterizován přítomností benigních změn (změny dlaždicových buněk) umožňující diagnostikovat syndrom ještě před vznikem maligního (zhoubného) tumoru. Za výjimečnou situaci daného pravidla je považována fenotypická obměna projevující se vznikem kožních sebaceózních nádorů, toto onemocnění se nazývá Muir-Torrehova syndrom. V dalších případech je Lynchův syndrom diagnostikován až při nálezů maligního (zhoubného) tumoru (Daum *et al.*, 2014).

2 Cíl

Cílem bakalářské práce je zpracovat literární přehled zabývající se nejnovějšími poznatky o Lynchově syndromu. Bakalářská práce bude zpracována formou rešerše a bude reflektovat recentní poznatky z tuzemských i zahraničních recenzovaných publikací.

V literární studii je uvedena charakteristika a klinický obraz onemocnění, včetně jeho dosud popsaných molekulárních variant (zejména mutace genu *MSH2*, *MLH1*, *PMS2*, *MSH6*, *MLH3* a *TGFBR2*) a současné možnosti diagnostiky a terapie.

3 Literární přehled

3.1 Historie

Historie Lynchova syndromu se datuje od roku 1985. Aldred Scott Warthin, světově proslulý patolog z Michiganské univerzity, se zabýval příběhem švadleny trpící depresivními stavy, které nastaly v souvislosti s úmrtím celé její rodiny (Lynch *et al.*, 2015).

V roce 1913 byl publikován rodokmen zahrnující případy rakoviny tlustého střeva a konečníku bez přítomnosti polypů a nádorových onemocnění žaludku a dělohy (Lynch *et al.*, 2015), označován jako „rodina G“. Roku 1966 byly identifikovány dvě středozápadní rodiny „rodina N“ a „rodina M“ s podobnými nálezy jako u „rodiny G“ (Lynch *et al.*, 1966). Studie zabývající se těmito rodinami napomohla k rozpoznání hlavních rysů Lynchova syndromu.

Pro diagnostiku HNPCC (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer; hereditární nepolypózní kolorektální karcinom) vznikla roku 1991 „Amsterdamská kritéria“ (Lynch *et al.*, 2015). Tato kritéria byla později rozšířena z důvodu výskytu nádorů, které se objevovaly v okolí tlustého střeva, na „Amsterdamská kritéria II“ (Vasen *et al.*, 1999).

Éra molekulární genetiky v Lynchově syndromu nastala v průběhu celogenomového výzkumu a studia vazebné analýzy v informativních rodinách, u nichž byl identifikován lokus se spojitostí k tomuto onemocnění na chromozomu 2p (Peltomäki *et al.*, 1993). Krátce poté byl určen druhý specifický lokus pro LS na chromozomu 3p (Lindblom *et al.*, 1993).

Během stejné časové periody bylo prokázáno, že se nádory, vyskytující se u pacientů s LS, vyznačují charakteristickou molekulární změnou, původně označovanou jako „chyba při replikaci“ (Lynch *et al.*, 2009). Tyto charakteristické molekulární změny se dnes nazývají „mikrosatelitní nestabilita“ (MSI) - (Thibodeau *et al.*, 1993). Zjištění, že je MSI důsledkem chybné replikace DNA (Strand *et al.*, 1993) nebo postsyntetické DNA reparace, přispělo k identifikaci prvních dvou LS genů - tzv. MMR genů (MMR; mismatch repair genes) na 2p a 3p, jmenovitě *MSH2* (*mutS homolog 2*) a *MLH1* (*mutL homolog 1*). Tyto geny kódují proteiny zapojené

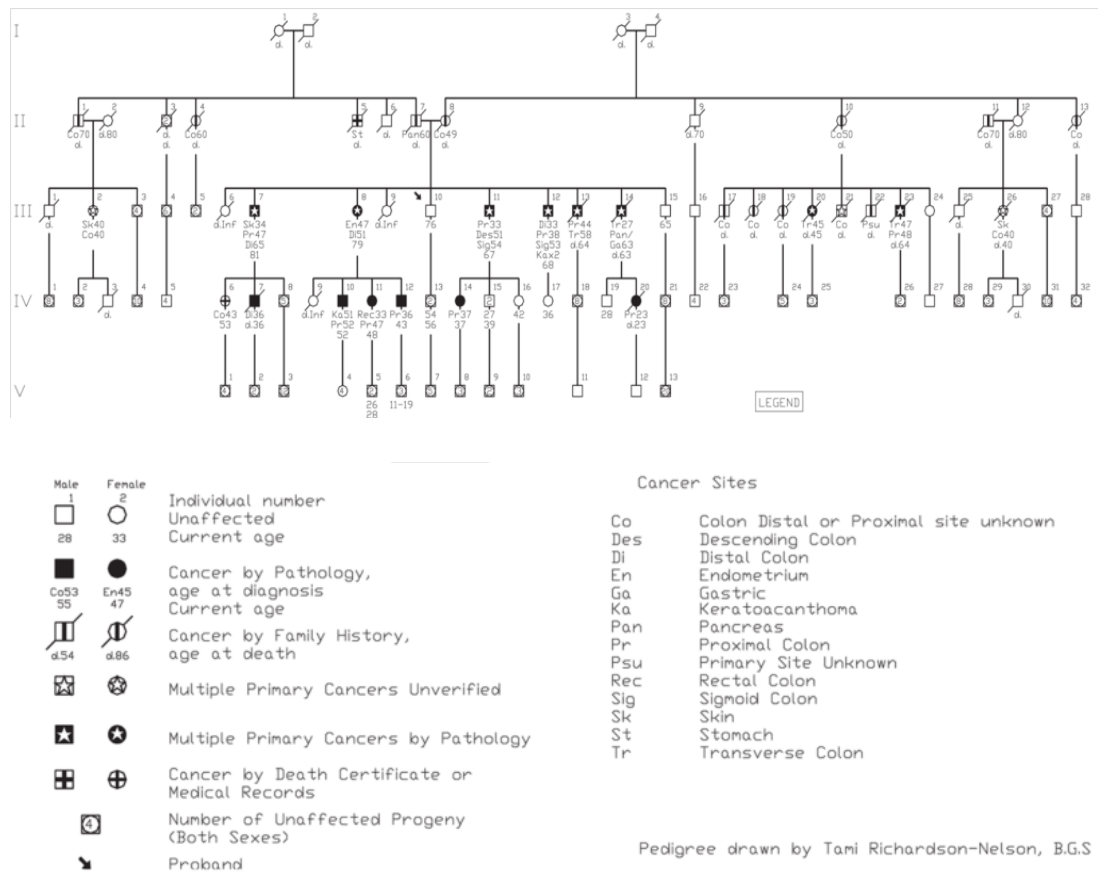
v identifikaci a opravách chyb v DNA (Fishel *et al.*, 1993; Leach *et al.*, 1993; Bronner *et al.*, 1994; Papadopoulos *et al.*, 1994). Identifikace zárodečné mutace v *MLH1* a *MSH2* byla následována objevem dalších genů, které kódují proteiny zapojené do opravy replikačních chyb v DNA, tzv. mismatch repair (MMR) genů. Dosud byly zjištěny geny: *MLH1* (Peltomäki *et al.*, 1993; Bronner *et al.*, 1994; Papadopoulos *et al.*, 1994), *MSH2* (Fishel *et al.*, 1993; Leach *et al.*, 1993; Lindblom *et al.*, 1993), *MSH6* (mutS homolog 6) - (Hendriks *et al.*, 2004), *PMS2* (PMS1 homolog 2) - (Nicolaidis *et al.*, 1994), a *MLH3* (mutL homolog 3) - (Wu *et al.*, 2001; Hienonen *et al.*, 2003).

3.2 Klinické rysy Lynchova syndromu

3.2.1 Základní poznatky o Lynchově syndromu

U Lynchova syndromu byla potvrzena zárodečná mutace MMR genů. Není ale povinností testovat každého pacienta s CRC na tyto mutace. Diagnostika LS je obtížná z důvodu nedostatku specifických fenotypických vlastností, usnadnit ji lze získáním komplexní rodinné anamnézy rakoviny ve všech anatomických lokalitách, s důrazem na základní rysy LS. Na Obr. 1 jsou zakresleny různé typy rakoviny vyskytující se jako nedílná součást tohoto syndromu (Lynch *et al.*, 2009).

Odbornými organizacemi byl přijat algoritmičtý přístup k LS s pokyny pro klinickou praxi vyvinutými pro posuzování rizik, genetické testování a klinickou péči pacientů a rodiny. Na tyto zásady dohlíží sdružení American Cancer Society (Smith *et al.*, 2001); American Society of Colorectal Surgeons (Church *et al.*, 2003 In Lynch *et al.*, 2015); National Comprehensive Cancer Network (Lynch *et al.*, 2009) a United States Gastrointestinal Consortium (Winawer *et al.*, 2003). Tyto společnosti vyvinuly celkový konsenzus dozoru a řízení. Naproti tomu jiné skupiny, např. American Society of Clinical Oncology a National Society of Genetic Counselors, se zaměřily především na genetické testování (Lynch *et al.*, 2009).



Obr. 1: Rodokmen klasického Lynchova syndromu

Zdroj: NCBI (2016)

3.2.2 Standardizované klinické pokyny pro diagnostiku Lynchova syndromu

V roce 1991 zavedla ICG-HNPCC (The International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer) ucelená klinická kritéria k usnadnění diagnostiky Lynchova syndromu (Lynch *et al.*, 2015). Tato kritéria jsou nyní označována jako „Amsterdamská kritéria“ a jsou zaměřena na rodinnou anamnézu projevu CRC v mladém věku. O osm let později byla „Amsterdamská kritéria“ rozšířena o poznatky o nádorech z okolí tlustého střeva (Vasen *et al.*, 1999). Roku 1993, kdy bylo objeveno MSI u LS, došlo k výrazné změně v diagnostice pacientů postižených tímto onemocněním. Pro uznání důležitosti MSI jako charakteristického rysu LS byl uskutečněn kongres, na němž byl podpořen návrh testování MSI, což vedlo k vývoji souboru pokynů Bethesda Guidelines (Rodriguez-Bigas *et al.*, 1997; Boland *et al.*, 1998). Tyto pokyny byly v roce 2004 poupraveny a poskytují

doporučení pro molekulární hodnocení nádorů a zárodečných linií, včetně MSI testování potřebného pro identifikaci LS (Umar *et al.*, 2004).

3.2.3 Kritéria k indikaci k vyšetření genů MMR systému

Amsterdamská kritéria jsou diagnostická kritéria sloužící lékařům k identifikaci rodin s pravděpodobným výskytem Lynchova syndromu.

3.2.3.1 Amsterdamská kritéria I. (Lynch *et al.*, 2015)

1. V rodině jsou alespoň tři pacienti s karcinomem tlustého střeva, jeden z nich je příbuzný prvního stupně ostatních dvou.
2. Jsou postiženy alespoň dvě generace.
3. Alespoň jeden nemocný byl mladší 50 let v době diagnózy.
4. Nádor byl verifikován patologem.
5. Je vyloučena familiární adenomatózní polypóza (FAP).

3.2.3.2 Amsterdamská kritéria II. (Lynch *et al.*, 2015)

1. V rodině jsou minimálně tři příbuzní s karcinomem sdruženým s HNPCC (kolorektální karcinom, karcinom endometria, tenkého střeva, ureteru a ledvinné pánvičky), jeden z nich je příbuzný prvního stupně ostatních dvou.
2. Jsou postiženy alespoň dvě generace.
3. Alespoň jeden nemocný byl mladší 50 let v době diagnózy.
4. Nádor byl verifikován patologem.
5. Je vyloučena familiární adenomatózní polypóza (FAP).

3.2.3.3 Revidovaná kritéria Bethesda Guidelines pro testování nestability mikrosatelitů nebo imunohistochemického (IHC) vyšetření exprese proteinů MLH1, MSH2, MSH6, eventuálně PMS2 v nádorech (Šilarová, 2014)

1. Kolorektální karcinom diagnostikovaný u pacienta mladšího 50 let.
2. Přítomnost synchronních nebo metachronních karcinomů střeva nebo jiných nádorů sdružených s HNPCC (karcinom kolorekta, endometria, žaludku, tenkého střeva, ovaria, pankreatu, ureteru a pánvičky, biliárního traktu, mozku – glioblastom, kůže – adenomy sebaceózních žláz a keratoakantomy), bez ohledu na věk.
3. Kolorektální karcinom s histologií odpovídající vysokému stupni MSI (MSI-H), diagnostikovaný u pacienta mladšího 60 let (přítomnost tumor infiltrujících lymfocytů, lymfocytární reakce podobná Crohnově chorobě, mucinózní charakter, medulární růst, prstencové buňky v nádoru)
4. Kolorektální karcinom diagnostikovaný u jednoho nebo více příbuzných 1. stupně s nádorem charakteristickým pro HNPCC, jeden z nádorů je diagnostikován před 50. rokem věku.
5. Kolorektální karcinom diagnostikovaný u dvou nebo více příbuzných 1. nebo 2. stupně s nádory sdruženými s HNPCC, bez ohledu na věk.

3.2.4 Fenotypové spektrum

Jedním z prvních uznaných klinických příznaků LS bylo vysoké procento nádorů v tlustém střevě, lokalizovaných v jeho proximální části (Lynch *et al.*, 1977), které byly diagnostikovány kolonoskopií (Lanspa *et al.*, 1994 In Lynch *et al.*, 2015). Po těchto studiích bylo zjištěno, že se ve slepém střevě nachází zhruba třetina kolorektálního karcinomu (CRC). Podle výzkumů hrozí i zvýšené riziko vzniku extrakolonických malignit, zejména karcinomů endometria, tenkého střeva, ovaria, ledvinné panvičky a močovodu, žaludku, nádorů kůže a mozku (Lynch *et al.*, 2015).

Muir-Torre syndrom, charakteristický kombinací nádorů se sebaceózní diferenciací a karcinomů vnitřních orgánů, byl v roce 1981 označen za fenotypickou

variantu LS. Nejčastějšími vnitřními malignitami jsou nádory gastrointestinálního a urogenitálního traktu. Z devadesáti procent se na vzniku Muir-Torreova syndromu podílí zárodečná mutace genu *MSH2*. Na zbylých deseti procentech se podílí mutace genu *MLH1* a v nedávné době byly zaznamenány případy s mutací genu *MSH6* (Hadravský *et al.*, 2016). Fenotypové projevy mohou být způsobeny i jinými příčinami než jen narušením MMR genů. Příkladem mohou být sebaceózní léze u pacientů s bialelickými mutacemi v *MYH* genu (Barnetson *et al.*, 2007).

3.2.5 Mikrosatelitní nestabilita

Klíčovým objevem byla ztráta funkce jednoho genu ukazující na mikrosatelitní nestabilitu (microsatellite instability, MSI) jako důsledek poruchy MMR systému. Mikrosatelit je sekvence repetitivní DNA složená z několika, většinou dvou či tří, nukleotidů. Mikrosatelity se v genomu vyskytují v hojném množství. Jejich délka je dědičná. Při replikaci DNA se ale mohou mikrosatelitní sekvence velmi snadno pozměnit. Dochází ke vzniku kratších (delece repetice) a delších (inzerce repetice) úseků. Příčinou je, že DNA na těchto místech snadněji sklouzává. Jestliže dojde u jedince ke změně délky mikrosatelitových lokusů, jedná se o mikrosatelitní nestabilitu. Stanovení úrovně MSI probíhá na základě určení nestability mezinárodně kodifikovaných markerů. Stav (respektive nádory) se vyhodnotí na základě počtu postižených markerů (Tab. 1) - (Daum *et al.*, 2014).

Tab. 1: Rozdělení nádorů podle stability mikrosatelitů

Zkratka	Počet markerů	Vyhodnocení
MSS (microsatellite stable)	0	nádor se stabilními mikrosatelity
MSI-L (microsatellite instability- low)	1	nádor s nízkým stupněm nestability mikrosatelitů
MSI-H (microsatellite instability- high)	>1	nádor s vysokým stupněm nestability mikrosatelitů

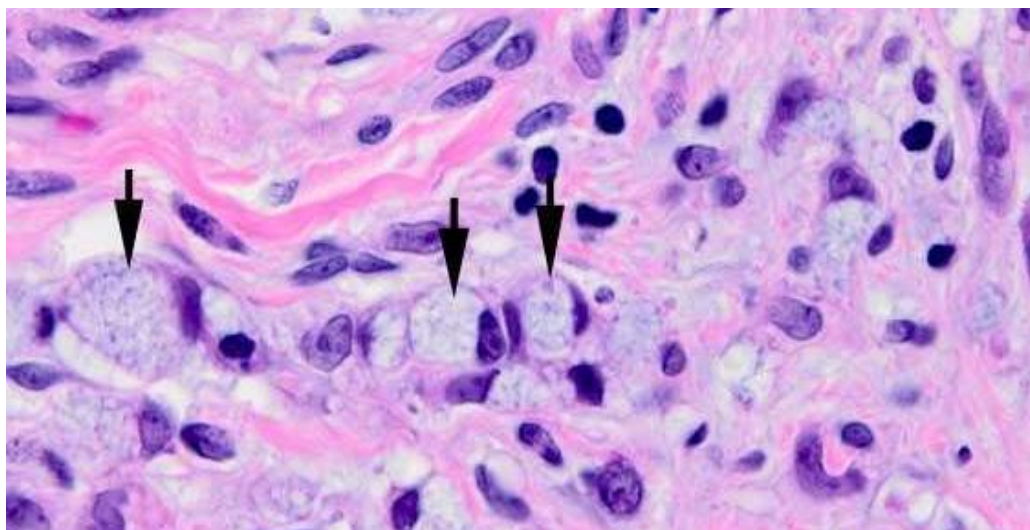
Zdroj: Daum *et al.* (2014)

3.2.6 Patologické vlastnosti nádorů spojených s Lynchovým syndromem

Hlavním rysem karcinomů přidružených k LS je urychlená karcinogeneze. Malý adenom tlustého střeva může vytvořit CRC za pouhé 2–3 roky, zatímco sporadické CRC se vyvíjí 6–10 let (Lynch *et al.*, 2015).

Histopatologicky vykazují nádory tlustého střeva spojené s Lynchovým syndromem charakteristické morfologické rysy, a to mucinózní charakter, prstenčité buňky, peri- a intratumorální infiltraci lymfocyty a medulární růst.

U pacientů s LS s asociovanými nádory je určitou výhodou přítomnost tumor infiltrujících lymfocytů - TIL (Deschoolmeester *et al.*, 2010), které mají prokazatelný protinádorový efekt. Prstenčité buňky jsou znázorněny na Obr. 2. Karcinom z prstenčitých buněk není typický pro onemocnění zvané familiární adenomatózní polypóza (FAP; Familial Adenomatous Polyposis), a naopak je charakteristický pro Lynchův syndrom.



Obr. 2: Karcinom z prstenčitých buněk

Zdroj: Pathpedia (2016)

3.3 Molekulární genetika

3.3.1 Identifikace MMR genů z hlediska etiologie LS

V roce 1993 byl poprvé zmapován lokus související s LS na chromozomu 2p21, s využitím polymorfních markerů (mikrosatelitní markery) - (Peltomäki *et al.*, 1993), výzkum probíhal u dvou velkých rodin pocházejících z různých kontinentů. Tím se potvrdila genetická podstata LS. Následně byl nalezen druhý lokus pro LS na chromozomu 2p21-23, vyskytující se u rodinných příslušníků vykazujících MSI (Lindblom *et al.*, 1993). Avšak ne všechny rodiny s LS vykazovaly vazbu na tyto dva lokusy, což poukazuje na genetickou heterogenitu v etiologii LS (Lynch *et al.*, 2015).

Na základě znalosti, že lidský homolog MMR genu je pravděpodobně kandidátní, byl identifikován gen *MSH2*, humánní homolog bakteriálního *mutS* a *MSH* *Saccharomyces cerevisiae*, a výzkum byl uzavřen hypotézou, že mutace v tomto genu je pravděpodobně kauzální mutací pro Lynchův syndrom (Fishel *et al.*, 1993). První gen spojený s Lynchovým syndromem - gen *MSH2* byl mapován pomocí technologie pozičního klonování na chromozomu 2p21 a byla v něm identifikována škodlivá mutace související s rakovinou v rodinách s LS. Roku 1994 byl klonován a mapován lidský homolog kvasinkového *MUTL* MMR genu - gen *MLH1* jako druhý gen v pořadí související s LS, lokalizovaný v oblasti 3p21-23 a byly v něm identifikovány škodlivé mutace u několika rodin s LS (Bronner *et al.*, 1994; Papadopoulos *et al.*, 1994). Téhož roku byly, na základě jejich konzervované sekvence s kvasinkovými homology, identifikovány geny *PMS1* a *PMS2* na chromozomech 2q31-33 a 7p22 a byla popsána germinální mutace u dvou pacientů s LS. Nicméně následné studie argumentovaly proti roli *PMS1* v patogenezi LS (Nicolaidis *et al.*, 1994; Liu *et al.*, 2001). O tři roky později byla publikována škodlivá mutace v genu *MSH6* (lokus 2p16) v rodině s LS s vysokým výskytem postižených jedinců, u kterých ale vzhledem k převaze výskytu extrakolonických nálezů a věku nástupu rakoviny nad 50 let nebyla splněna Amsterdamská kritéria I. V té době byla navržena hypotéza fenotypické heterogenity Lynchova syndromu, podle níž obsahují MMR geny kauzální mutace, a tato koncepce byla následně potvrzena epidemiologickými studiemi (Tab. 2) - (Miyaki *et al.*, 1997). V roce 2000

byl prostřednictvím biochemických analýz MMR systému popsán další gen MMR - *MLH3*, umístěný na chromozomu 14q24 (Lipkin *et al.*, 2000). Dosud však neexistuje jasný důkaz o roli mutací v *MLH3* v patogenezi Lynchova syndromu, protože bylo identifikováno několik nositelů těchto mutací, u kterých nebyla potvrzena rodinná anamnéza ani MSI (Ou *et al.*, 2009; Korhonen *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2001).

Tab. 2: Fenotypová heterogenita způsobená zárodečnými mutacemi v MMR genech

Příčinný mechanismus	Fenotypická heterogenita
Heterozygotní mutace v genu <i>MLH1</i>	LS: predominance CRC; extrakolonické nádory jsou méně časté než u <i>MSH2</i> mutací
Heterozygotní mutace v genu <i>MSH2</i>	LS: větší frekvence extrakolonických nádorů
Heterozygotní mutace v genu <i>MSH6</i>	LS: predominance rakoviny endometria; tumory se někdy mohou projevovat i nižší MSI
Heterozygotní mutace v genu <i>PMS2</i>	LS: může obsahovat nadměrné množství střevních polypů; nižší frekvence rakoviny
Heterozygotní delece v genu <i>EPCAM</i>	LS: utlumení exprese genu <i>MSH2</i> ; často nižší riziko extrakolonických nádorů, ačkoliv pokud je delece uvnitř genu <i>MSH2</i> , riziko rakoviny endometria se zvyšuje
Monoalelická epimutace v <i>MLH1</i>	LS: fenotypická exprese se zdá být podobná jako u nositelů <i>MLH1</i> mutace; část epimutací <i>MLH1</i> je dědičných, ale častěji epigenetický defekt vzniká <i>de novo</i>
Bialelická mutace v jednom ze čtyř MMR genů	CMMR-D syndrom: velmi brzký počátek nádorových onemocnění (hematologických, urinárního traktu, mozku - glioblastom, kolorektálního karcinomu) a neurofibromatózy

Zdroj: Nature (2016)

3.3.2 Mutace v MMR genech

Zjišťování mutací a jejich role v patogenezi Lynchova syndromu odrážely v průběhu let technologický pokrok diagnostických metod. Detekce mutací byla zpočátku prováděna sekvenační analýzou exonů v genomické DNA a následně bylo zařazeno i definování hranic exon-intron. Bylo identifikováno velké množství bodových mutací, včetně mutací posunových (frameshift mutation), nesmyslných (nonsense mutation) a sestřihových (splicing mutation), jejichž výsledkem je přepis NMD (Nonsense-Mediated mRNA Decay) a/nebo zkrácená či pozměněná struktura proteinu. Odhalení ztráty exprese MMR proteinu u tumorů souvisejících s LS asociovanými tumory vedlo k rutinnímu použití imunohistochemických metod k determinaci statusu MMR proteinů jako biomarkerů k identifikaci potenciální s LS asociované rakoviny a jako ukazatelů k odhalení genu, ve kterém došlo nejpravděpodobněji ke germinální mutaci. Byly také rozpoznány mnohé missense mutace vedoucí k substituci aminokyselin. Na základě funkčních studií demonstrujících změnou schopnost kódované varianty MMR proteinu bylo zjištěno, že část těchto mutací nebyla patogenních (Rasmussen *et al.*, 2012). Nicméně patogenní role missense mutací, souhrnně označovaných jako „varianty nejistého významu“ (Variants of Uncertain Significance; VUS) zůstává stále otázkou. Náhodnou sekvenační analýzou cDNA byla detekována rozsáhlá delece na exonech genů *MLH1* a *MSH2* (Nystrom-Lahti *et al.*, 1995; Marshall *et al.*, 1996). V roce 1998 bylo metodou Southernova přenosu (Southern blotting) zjištěno, že rozsáhlé chromozomální přestavby - intersticiální delece a duplikace (jež postihnou i gen *MSH2*), které rezultují v nedostatek intaktního proteinu, jsou častou příčinou Lynchova syndromu (Wijnen *et al.*, 1998). V roce 2000 byla popsána „technika konverze diploidity na haploiditu“, která umožnila oddělit homologní pár chromozomů pacienta jeden od druhého. Tato metoda umožnila provést genetickou analýzu individuálně na každé z alel genu a vedla ke zjištění předchozích neidentifikovaných, nejasných bodových mutací a velkých chromozomálních přestaveb, zahrnujících identifikaci mutace c.646-3T→G v genu *MSH2* v akceptorovém místě sestřihu exonu 4 (Lynch *et al.*, 2015). Exon 4 je odpovědný za LS u tzv. „rodiny G“ (Douglas *et al.*, 2005).

Objev metody MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) umožnil analýzu variability počtu kopií segmentů DNA (CNV; copy number variation), zejména v genech *MSH2* a *MLH1*. Většina z těchto variant byla přiřčena rekombinacím mezi Alu-repeticemi, které se vyskytují v *MSH2* ve velmi početném stavu. Současný genetický screening zárodečných mutací MMR genů zahrnuje použití sekvenační analýzy všech kódujících exonů a hranic exon-intron, a metodu MLPA, což umožňuje získat širokou distribuci mutací u těchto genů. V případě *PMS2* komplikují vysoce konzervované pseudogeny detekci mutace, ale použitím long-range PCR, metody sekvenování cDNA a nových MLPA strategií se podařilo tento problém vyřešit (Clendenning *et al.*, 2006; Vaugh *et al.*, 2010; Vaugh *et al.*, 2013; Wimmer *et al.*, 2014).

V roce 2004 byla zpřístupněna databáze všech známých mutací způsobujících rakovinu u LS. Databáze je vedena a průběžně aktualizována společností InSiGHT (International Society for Gastrointestinal and Hereditary Tumours) - (Plazzer *et al.*, 2013).

3.3.3 Možné příčiny Lynchova syndromu

Navzdory pokrokům v technologiích genetického screeningu zůstávají zárodečné mutace v MMR genech až u 30 % rodin s klinickou suspekci na LS stále neodhaleny. Roku 2002 byl zjištěn případ epigenetického defektu, nyní známý pod pojmem vrozená epimutace (constitutional epimutation) *MLH1*, která je charakterizována monoalelickou metylací a nedostatečnou expresí v normálních somatických buňkách a je považována za alternativní příčinu LS u pacientů s absencí mutace MMR genů. Dále bylo prokázáno, že *MLH1* epimutace mají sklon vznikat *de novo*, což vysvětlilo jejich nález u některých nositelů v rodině, kde se nevyskytovaly (Hitchins *et al.*, 2005). Pravděpodobnost vertikálního přenosu epimutací do dalších generací byl v nadcházejících letech žhavě diskutován. V r. 2007 byl zjištěn přenos *MLH1* epimutace z matky na syna, s modelem dědičnosti odlišným od mendelistického (Hitchins *et al.*, 2007). O čtyři roky později byl zjištěn autozomální typ dědičnosti *MLH1* epimutace, jejíž příčinou byla skrytá genetická alterace v blízkosti *MLH1* genu, zahrnující promotorovou sekvenci a rozsáhlé duplikace zasahující *MLH1*

i sousední geny (Hitchins *et al.*, 2011; Morak *et al.*, 2011). Bylo tedy prokázáno, že epimutace v genu *MLH1* jsou dědičné, ale mohou mít mendelistický i nemendelistický vzorec dědičnosti. *MLH1* epimutace byla zjištěna u více než 10 % pacientů s LS s *MLH1*-deficientními tumory, u kterých nebyla zjištěna mutace MMR genů (Hitchins *et al.*, 2013).

Roku 2006 byl u rodiny s LS publikován případ dědičné autozomálně dominantní *MSH2* epimutace, charakterizované metylací *MSH2* promotoru v normálních tkáních (Chan *et al.*, 2006 In Lynch *et al.*, 2015). V roce 2009 byla detekována epimutace *MSH2* u některých rodin s LS, které vyplývaly ze zárodečných mutací typu delecí terminálního konce sousedního genu *EPCAM* (epithelial cell adhesion molecule; TACSTD1) - (Ligtenberg *et al.*, 2009). *EPCAM* se exprimuje výhradně v epitelových tkáních, downstream metylace a genový silencing *MSH2* se manifestuje pouze v epitelových tkáních. Screening (metodou MLPA) delecí v genu *EPCAM*, které jsou ve vazbě k *MSH2* epimutaci, byl nyní zahrnut do rutinního molekulárně genetického testu Lynchova syndromu (Lynch *et al.*, 2015).

3.3.4 Funkce MMR v buňkách

Znalosti metabolických drah MMR proteinů u nižších organismů napomohly k odhalení lidských MMR genů. Biochemické experimenty umožnily kompletní rekonstrukci reakce MMR *in vitro*, což napomohlo k hlubšímu porozumění těmto metabolickým dráhám (Constantin *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005).

MMR dráhy opravují jednonukleotidové neshody (missmatches) a malé inserční nebo deleční smyčky (IDLs; insertion or deletion loops), které vznikají, když se polymeráza snaží replikovat malé repetitivně sekvence. *MSH2* a *MSH6* tvoří heterodimery, které rozpoznávají oba typy chyb, zatímco *MSH2*-*MSH3* heterodimer rozeznává větší IDLs (Acharya *et al.*, 1996).

V případě narušené rozpoznávací specifity zajistí tvorba dvou *MSH* heterodimerů funkční redundanci. Tato redundance může být příčinou rozdílné distribuce mutací v MMR genech identifikovaných u LS - mutace v *MSH2* je u tohoto onemocnění rozšířenější než mutace v *MSH6* (Plazzer *et al.*, 2013).

Po rozpoznání jednonukleotidové neshody (missmatch) v přítomnosti ATP, podléhá MSH2-MSH6 heterodimer (Gradia *et al.*, 1997; Gradia *et al.*, 1999) konformační změně na posuvnou svorku (sliding clamp), která se může podél DNA připojit k druhému heterodimeru sestávajícímu z MLH1 a PMS2 (Blackwell *et al.*, 2001; Acharya *et al.*, 2003; Geng *et al.*, 2012).

MLH1 se také páruje s MLH3, který může opět poskytnout funkční redundanci, která by mohla objasnit sníženou frekvenci mutací u LS uvnitř genu *PMS2* ve srovnání s genem *MLH1* (Chen *et al.*, 2005).

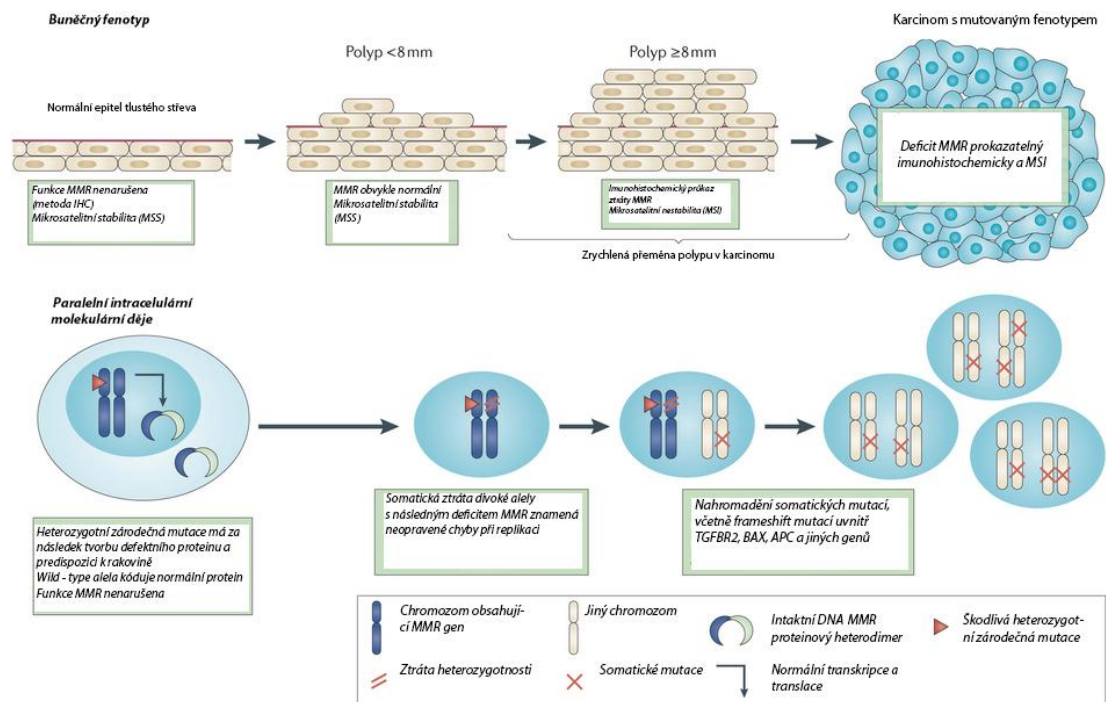
Komplexy MSH2-MSH6 a MLH1-PMS2 regulují společně „downstream“ fázi reparační. DNA PCNA (DNA processivity factor proliferating cell nuclear antigen) je také vložen blízko místa neshody a může stimulovat latentní endonukleázovou aktivitu PMS2, která odštěpuje jednovláknový úsek v dceřiném vlákně DNA (Kadyrov *et al.*, 2006; Pluciennik *et al.*, 2010).

3.3.5 Vývoj rakoviny

Ztráta divoké (wild type) alely mutovaného MMR genu je rysem nádorů Lynchova syndromu (Knudson, 1985). Ztráta funkce obou alel v somatických buňkách vede k nedostatečné funkci MMR a k tzv. mutovanému fenotypu. Hypotéza mutovaného fenotypu byla navržena v roce 1974 Loebem *et al.*, který uvedl, že poruchy při replikaci DNA zvyšují frekvenci mutací v rakovinných buňkách a pravděpodobnost jejich výskytu v důležitých onkogenech nebo tumor supresivních genech (Loeb *et al.*, 1974). Deficit MMR vzniká v důsledku chyb neopravených DNA polymerázou. V průběhu další fáze replikace DNA je nesprávně vložená báze nebo další zařazená repetitivní sekvence replikována a tím trvale fixována v genomu. Tento fenomén zdůrazňuje přítomnost MSI a mnohonásobné zvýšení frekvence mutací pozorovaných u MMR-deficientních buněk. Rozpoznání, že jsou mikrosatelitní sekvence částečně citlivé k mutovanému fenotypu, přimělo vědce k hledání mutací uvnitř tandemových repetitivních sekvencí v kódující oblasti nádorových genů. V roce 1995 byla na polyadenylovém konci genu *TGFBR2* (Transforming Growth Factor- β type II Receptor) zjištěna zvýšená frekvence frameshift mutací (Markowitz *et al.*, 1995). Tyto mutace uvnitř kódujících

mononukleotidových repeticií byly následně identifikovány u dalších tumor supresorových genů u nádorů asociovaných s LS, zahrnujících *APC* (Adenomatous Polyposis Coli) - (Huang *et al.*, 1996), *BAX* (BCL2-associated X protein; Bcl2(pro-apoptotický protein B-cell lymphoma)-asociovaný X protein) - (Rampino *et al.*, 1997) a mnoho dalších (Percesepe *et al.*, 1998; Mori *et al.*, 2001; Duval *et al.*, 2002).

Podrobnější informace k mutovanému fenotypu u MMR-deficientních rakovinných buněk poskytla studie rakoviny tlustého střeva prováděná organizací TCGA (The Cancer Genome Atlas), která poukázala, že MMR-deficientní tumory obsahují stovky až tisíce somatických bodových mutací, zahrnující jak frameshift mutace, tak i nukleotidové substituce (Cancer Genome Atlas Network, 2012). Tato zrychlená akumulace mutací u MMR-deficientních buněk může vysvětlit rapidní progresi pozorovanou u LS tumorů (Obr. 3).



Obr. 3: Vývoj kolorektálního karcinomu u jedince s Lynchovým syndromem

Zdroj: Nature (2016) - (upraveno)

3.3.6 Genetická heterogenita MMR genů

Celoplošné rozšíření testu MSI a genetického testování vedlo k porozumění fenotypového projevu onemocnění u nositelů mutací v MMR genech. Heterozygotní mutace MMR genů způsobují LS, zatímco bialelické mutace uvnitř MMR genů způsobují mnohem závažnější rakovinový fenotyp známý jako syndrom konstitučního deficitu mismatch opravného systému (CMMR-D; Constitutional mismatch repair deficiency syndrome) - (Lynch *et al.*, 2015). V roce 1999 bylo zjištěno několik případů rakoviny u dětí - u dvou párů sourozenců (z navzájem příbuzných rodin), u kterých se objevily hematologické malignity a neurofibromatóza. Všechny děti byly homozygoty pro mutaci v genu *MLH1*. U následně publikovaných případů byla detekována bialelická zárodečná mutace v genech MMR a pacienti vykazovali projevy CRC, hematologické malignity, rysy neurofibromatózy, glioblastom a nádory močových cest, s včasným věkem nástupu nádorového onemocnění 6 let (Ricciardone *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 1999).

Byly popsány i případy výskytu CMMR-D syndromu u nepříbuzných jedinců, kdy se jednalo o heterozygotní mutace v MMR genech - *MSH6* a *PMS2* (Bougeard *et al.*, 2014). Kompletní neschopnost opravit chyby v sekvenci DNA, ke kterým došlo v průběhu replikace u jedinců s CMMR-D syndromem vysvětluje vysokou penetranci a časně propuknutí rakoviny. Naproti tomu pacienti s Lynchovým syndromem, kteří jsou nositeli heterozygotních mutací MMR genů, jsou v jistém slova smyslu chráněni přítomností jedné divoké (wild-type) alely (Lynch *et al.*, 2015).

Klinické projevy Lynchova syndromu jsou variabilní. Případy se zárodečnou mutací v genech *MLH1* nebo *MSH2* vykazují klasický fenotyp LS, splňující Amsterdamská kritéria I. (průměrný věk propuknutí CRC je 43–46 let, nádory vykazují MSI). Případy s detekovanými mutacemi v genu *MSH2* vykazují tendenci k tvorbě většího množství extrakolonických tumorů (Vasen *et al.*, 1996; Vasen *et al.*, 2001; Peltomäki *et al.*, 2001). *MSH2* mutace převládají u Muir-Torre varianty Lynchova syndromu (Mangold *et al.*, 2004).

Objevují se také případy LS s atypickým fenotypem. Tento neobvyklý fenotyp je způsoben zárodečnými mutacemi v genech *MSH6* a *PMS2*. Nositelky mutace v genu *MSH6* mají vyšší riziko rakoviny endometria, s průměrným věkem nástupu

onemocnění nad 50 let (Wagner *et al.*, 2001). Vyšší penetranci a včasnější věk propuknutí rakoviny spojené s mutacemi v genech *MLH1* a *MSH2* (ve srovnání s mutacemi genů *MSH6* a *PMS2*) lze částečně vysvětlit funkční nadbytečností *MSH3* a *MLH3*, zatímco nedostatečná exprese *MLH1* a *MSH2* rezultuje v destabilizaci jejich příslušných partnerů, které jsou s nimi ve vzájemné interakci (Lynch *et al.*, 2015).

Fenotypové rozdíly u LS byly pozorovány i u pacientů se stejnou zárodečnou mutací, z čehož vyplývá, že se podílí i mnoho dalších faktorů. U dvanácti členů ze dvou rodin postižených LS byly studovány patologické vlastnosti kolorektálního karcinomu a také adenomů. Morfologie nádorů a exprese β -catenin se lišila v rámci rodin a dokonce mezi synchronními a metachronními CRC od těch samých jedinců. U proximálních nádorů CRC byly častěji nalézány tumor infiltrující lymfocyty, naopak u distálních byly často zřetelné morfologické rysy nádorů asociovanými s LS (Halvarsson *et al.*, 2007). U pacientů s glioblastomem a rakovinou ledvin spadajících do skupiny LS nebo CMMR-D syndromu je méně pravděpodobná mikrosatelitní instabilita, navzdory ztrátě důležitého MMR proteinu. To naznačuje, že vývoj těchto tumorů u LS se vyvíjí odlišným mechanismem. Příčiny citlivosti některých tkání k tvorbě nádorů v rámci LS a CMMR-D zůstávají stále nepochopeny (Lynch *et al.*, 2015).

3.4 Diagnostika

3.4.1 Úskalí v určení diagnózy

Diagnostika Lynchova syndromu je založena na kombinaci projevu klinického fenotypu, rutinní patologii nádorů a/nebo genetickém screeningu. Pro identifikaci pacientů se zvýšeným rizikem k propuknutí LS slouží revidovaná kritéria Bethesda Guidelines (Umar *et al.*, 2004).

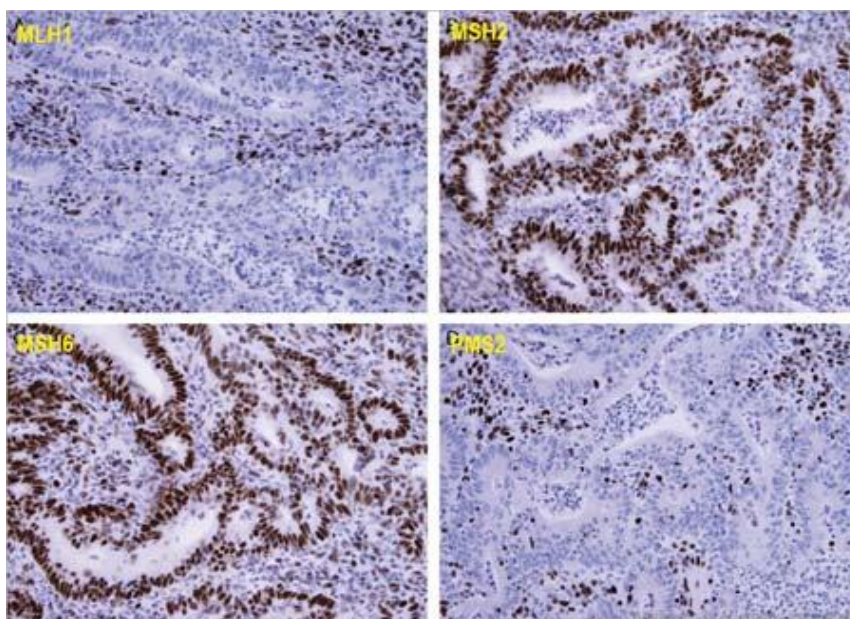
Zásadním převratem v diagnostice LS byla identifikace mikrosatelitní nestability a imunohistochemické vyšetření (IHC) k detekci všech čtyř MMR proteinů (*MLH1*, *MLH2*, *MSH6* a *PMS2*). IHC vyšetření všech těchto MMR proteinů odhaluje, ve kterém z MMR genů je nejpravděpodobněji přítomna patogenní germinální mutace,

např. ztráta exprese PMS2 nebo MSH6 proteinu naznačuje potencialitu zárodečné mutace uvnitř genu *PMS2*, resp. *MSH6*. Při dvojité ztrátě exprese proteinů MLH1 a PMS2 může dojít k zárodečné mutaci pouze uvnitř *MLH1*, protože PMS2 protein je destabilizován absencí proteinu MLH1. Pokud by došlo k mutaci v DNA MMR genu *PMS2*, dojde k absenci proteinu PMS2, ale protein MLH1 zůstane zachován (Obr. 4). Podobně nepřítomnost obou proteinů MSH2 a MSH6 může znamenat germinální mutaci v genu *MSH2*, protože MSH6 je nestabilní v důsledku absence MSH2 (Lynch *et al.*, 2015). Pokud nastane mutace v genu *MSH6*, protein MSH2 zůstane zachován (Obr. 5).

Imunohistochemickým vyšetřením zjistíme přítomnost nebo absenci DNA MMR proteinů v buňkách. Obarvené protilátky se specificky navážou na konkrétní DNA MMR protein. Jsou používány protilátky proti MLH1, MSH2, PMS2 a MSH6 (Hadravský *et al.*, 2016).

Plošnější testování populace s diagnostikovanou rakovinou přišlo s revidováním kritérií Bethesda Guidelines v roce 2004 (Lynch *et al.*, 2015).

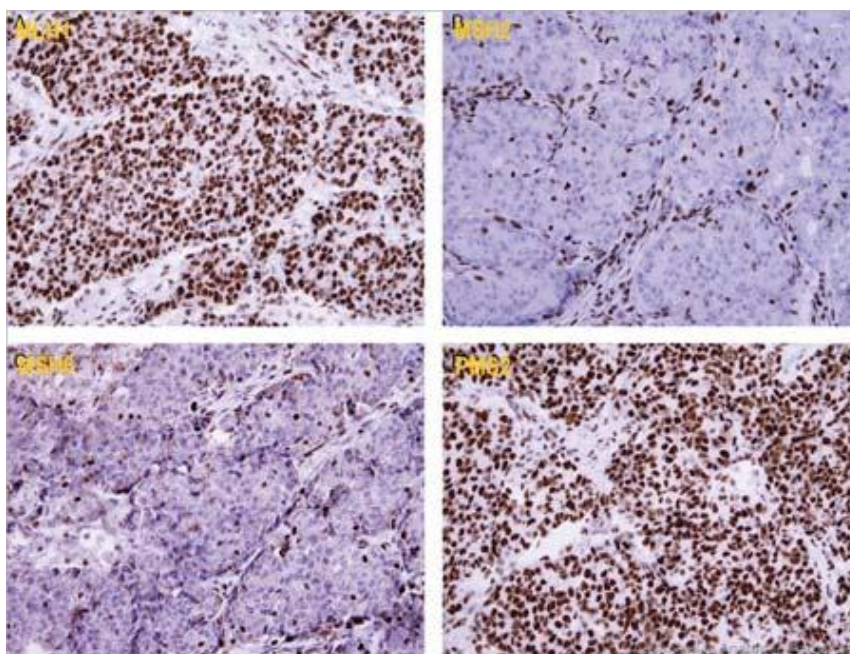
V roce 2008 proběhla studie 500 pacientů s CRC, z toho u 18 pacientů (3,6 %) byl diagnostikován LS. Výzkumem bylo ale zjištěno, že jeden z každých 35 pacientů s CRC má LS a každý z nich má nejméně 3 příbuzné s LS (Hampel *et al.*, 2008). Prevalence byla tedy mnohem vyšší, než se předpokládalo, což přináší dostatečné důvody pro realizaci rozsáhlého testování každého případu CRC na možnou potencialitu LS (Lynch *et al.*, 2015).



Obr. 4: Absence proteinů MLH1 a PMS2

(Možné varianty - mutace v DNA MMR genu *MLH1* (Lynchův syndrom) nebo hypermetylace promotoru DNA MMR genu *MLH1*. V obou případech dochází i ke ztrátě vedlejšího proteinu PMS2. Pokud by byla jen mutace v DNA MMR genu *PMS2* (vedlejší), protein MLH1 zůstane zachován.)

Zdroj: Lynch (2016)

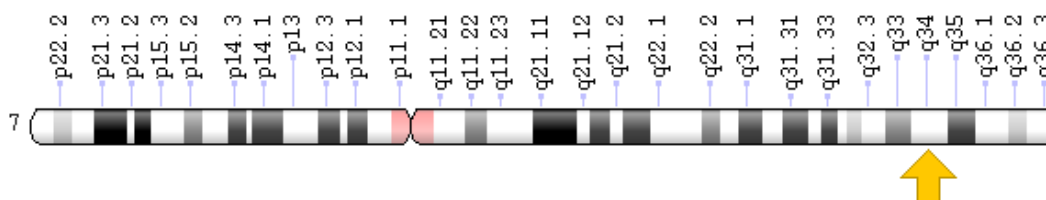


Obr. 5: Absence proteinů MSH2 a MSH6

(Absence proteinů MSH2, MSH6. Mutace v DNA MMR genu *MSH2*. Dochází i ke ztrátě vedlejšího proteinu MSH6. Pokud by byla jen mutace v DNA MMR genu *MSH6* (vedlejší), protein MSH2 zůstane zachován.)

Zdroj: Lynch (2016)

I když je MSI (deficit MMR genů) charakteristickým rysem kolorektálních karcinomů asociovaných s Lynchovým syndromem, přibližně 12 % sporadicky se vyskytujících CRC rovněž vykazuje mikrosatelitní instabilitu (Lynch *et al.*, 2015). Tyto sporadicky se vyskytující nádory mají podobné klinickohistopatologické rysy jako LS-asociované CRC, včetně tendence rozvoje v proximální části tlustého střeva, špatně diferenciaci a mucinózní charakter nádoru (Boland *et al.*, 2010). U sporadických případů CRC s prokázanou MSI bylo zjištěno, že příčinou je somaticky získaná hypermetylace obou alel promotoru genu *MLH1*, která vyústila ve ztrátu exprese proteinu MLH1 (Kane *et al.*, 1997; Cunningham *et al.*, 1998; Veigl *et al.*, 1998). Ztráta exprese proteinu MLH1 byla spojena s přítomností mutace V600E v protoonkogenu *BRAF* (Deng *et al.*, 2004). Gen *BRAF* kóduje protein, který je součástí raf/mil serin/threoninových kináz. Tento protein hraje důležitou roli v regulaci MAP/ERK signální kaskády, která ovlivňuje růst a proliferaci buněk. Mutace tohoto genu se nejčastěji nachází u agresivní formy rakoviny kůže zvané melanom, u rakoviny tlustého střeva a konečníku, vaječníků a štítné žlázy. Umístění na chromozomu je 7q34 (Obr. 6) - (GHR¹, 2016).



Obr. 6: Lokalizace genu *BRAF*

Zdroj: GHR (2016)

Díky objevu těchto dvou vzácných molekulárních případů u LS tumorů, byly následně mutace *BRAF* V600E a hypermetylace *MLH1* využívány pro rozlišení CRC asociovaných s LS od běžnějších sporadických „MSI+“ protějšků (Domingo *et al.*, 2004; McGivern *et al.*, 2004). Při testování metylace *MLH1* u nádorů nebyly rozlišeny případy Lynchova syndromu od vrozených *MLH1* epimutací nebo metylací vzniklých v průběhu tumorigeneze u sporadických „MSI+“ případů (Lynch *et al.*, 2015).

Definitivní diagnóza Lynchova syndromu se stanovuje identifikací škodlivé zárodečné mutace nebo epimutace postihující jeden z asociovaných MMR genů. Diagnostika na bázi molekulární genetiky se stala klíčovou pro diferenciální diagnostiku Lynchova syndromu, protože existují další rakovinné syndromy s klinicky se překrývajícími rysy, jako např. FAP (Familial Adenomatous Polyposis; familiární adenomatózní polypóza), MAP (MYH-Associated Polyposis; MYH asociovaná polypóza) a familiární kolorektální karcinom typu X (Familial Colorectal Cancer Type X) - (Lynch *et al.*, 2015). LS, FAP a MAP představují více než 5 % všech celosvětových případů CRC. Lynchův syndrom je z nich ale nejčastější (Hegde *et al.*, 2014).

Jedním z úkolů, který čeká budoucí molekulární diagnostiku LS, je odhalit význam velkého počtu identifikovaných VUS („varianty nejistého významu“) mutací (Heinen *et al.*, 2012).

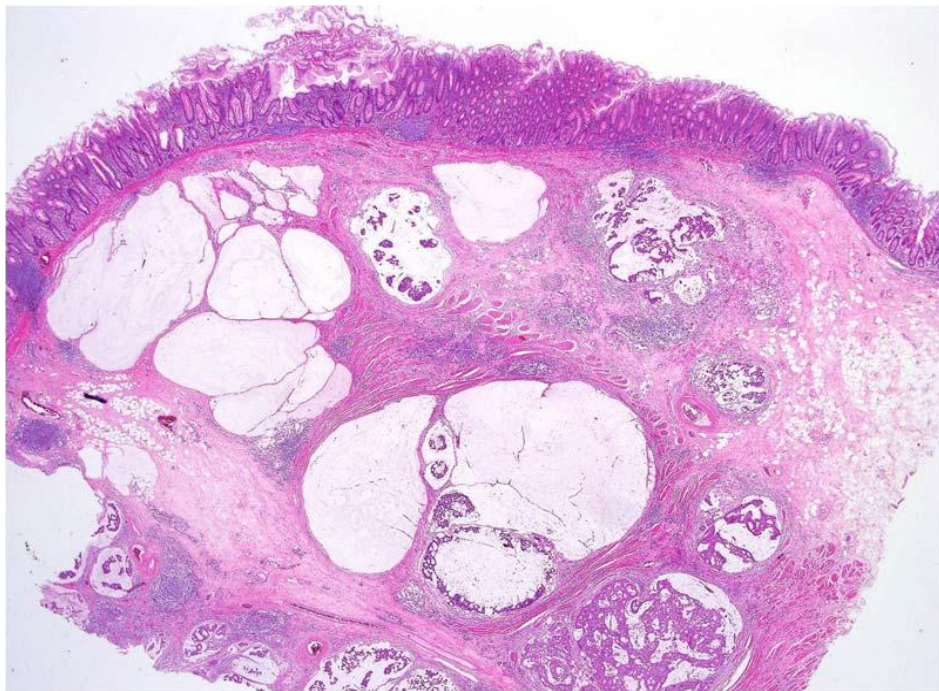
V roce 2014 zveřejnila InSIGHT (Mezinárodní společnost pro gastrointestinální a dědičné nádory) svou databázi genetických variant MMR rozdělených na základě jejich pravděpodobné patogenity pomocí pětistupňové stupnice (Thompson *et al.*, 2014). Tato stupnice pomáhá při diagnostice pacientů, nicméně je nutný ještě další výzkum k definitivní determinaci patogenity značného množství variant (VUS) - (Lynch *et al.*, 2015).

3.4.2 Genetické poradenství

Genetické poradenství poskytuje pacientovi a jeho rodině informace o závažnosti onemocnění. Pacient musí podepsat informovaný souhlas s genetickým testováním. Jedno sezení s pacientem trvá přibližně 60–90 minut (Lynch *et al.*, 2009). Genetické poradenství probíhá před odběrem vzorků DNA. Genetické testování je prováděno u postiženého jedince a jeho příbuzných. Nejednoznačné výsledky genetického testování představují diagnostický problém, jelikož riziko rakoviny nelze vyloučit. Je potřeba zvážit pozici pacienta v rámci rodokmenu, a zda byla nebo nebyla zárodečná mutace identifikována u jeho příbuzného (prvního nebo druhého stupně) - (Lynch *et al.*, 2003).

3.4.3 Informování pacientů o genetickém testování

Pacient musí poskytnout informovaný souhlas před odběrem lymfocytů z periferní krve, které budou použity pro testování zárodečné mutace. Pacient by měl být seznámen s pravděpodobností výskytu rakoviny v případě detekce zárodečné mutace. Pokud mutace v rodině nebyla odhalena, musí být negativní výsledek správně interpretován. Prodiskutovány musí být i krátkodobé a dlouhodobé psychické dopady (Lynch *et al.*, 2003). K vyšetření nádorů a potvrzení LS se používají následující metody: histologické vyšetření, test mikrosatelitní nestability, test na vyloučení mutace v genu *BRAF* (B - Raf Proto - Oncogene, Serin/Threonine Kinase), test hypermetylace promotoru genu *MLH1* a imunohistochemické vyšetření DNA MMR proteinů (Obr. 7) - (Hadravský *et al.*, 2016).



Obr. 7: Histologický snímek typického tumoru tlustého střeva u LS

(krajní část zdravá, ve spodní části typická nádorová tkáň - velká hlenová jezírka, uvnitř ostrůvky nádorových buněk)

Zdroj: Lynch (2016)

3.4.4 Klinický dohled

Pro hodnocení efektivity lékařského dohledu byl vyvíjen model odhadu nákladů na zdravotní péči a délky života nositelů mutace v MMR genech. Pacienti byli rozděleni do dvou skupin. U první skupiny byla prováděna kolonoskopie jednou za dva až tři roky. Druhá skupina sledována nebyla. Výsledky ukázaly, že u sledovaných jedinců došlo ke zvýšení délky života průměrně o sedm let. Náklady na léčbu byly u pacientů s dohledem nižší ve srovnání s pacienty bez lékařského dohledu (Lynch *et al.*, 1999).

Z důvodu nízkého věku nástupu CRC je doporučováno, aby byla kolonoskopie prováděna u pacientů s 50% rizikem výskytu HNPCC na základě jejich rodokmenu již ve věku 20 až 25 let. Doporučení zahrnuje i pacienty, kteří jsou nositeli zárodečné mutace. Pacienti s vysokým rizikem onemocnění se podrobují kolonoskopii každý druhý rok. U kolonoskopie je však vysoké riziko (29 %), že nebudou rozpoznány polypy o velikosti < 5 mm. K minimalizaci nerozpoznaných případů je nutná dokonalá příprava a pečlivé provedení kontroly celé sliznice tlustého střeva. Vyšetření pouze na základě kolonoskopie není dokonalým screeningovým postupem, a proto by měli být pacienti o této skutečnosti poučeni (Lynch *et al.*, 1999).

3.5 Terapie

3.5.1 Chirurgická terapie

Pokud je diagnostikována rakovina tlustého střeva, jsou navrženy následující chirurgické zákroky: segmentální resekce nebo úplná kolektomie s ileorektální anastomózou (TAC/IRA; Total Abdominal Colectomy with Ileorectal Anastomosis). Při segmentální resekci dojde k odstranění pouze postižené části tlustého střeva (pravá nebo levá hemikolektomie). Úplná kolektomie s ileorektální anastomózou je odstranění celého tlustého střeva a anastomóza ilea, konečníku nebo rectosigmoidea. Úplná kolektomie s ileorektální anastomózou může být provedena dvěma způsoby: terapeuticky nebo profylakticky. U terapeutického způsobu dojde k odstranění celého tlustého střeva z důvodu zjištění onemocnění. Profylaktický způsob je odstranění

celého tlustého střeva v rámci prevence. Při TAC/IRA dojde k vyjmutí části tlustého střeva postiženého rakovinou, nebo části tlustého střeva obsahující metachronní neoplazie. Většina autorů se shoduje na tom, že vzhledem k vysokému riziku metachronní neoplazie je TAC/IRA pro pacienta s Lynchovým syndromem a rakovinou tlustého střeva nejlepší možností. Je-li provedena segmentální resekce, vznikne později ve zbývající části tlustého střeva metachronní neoplazie. Byly provedeny tři studie, zda je výhodnější úplná kolektomie nebo segmentální resekce. Bylo zjištěno, že pokud dojde k odstranění větší části tlustého střeva je zde menší riziko vzniku metachronní rakoviny (Tab. 3; 4; 5) - (Baucom *et al.*, 2012).

Tab. 3: Úplná kolektomie s ileorektální anastomózou vs. segmentální resekce u HNPCC: Metachronní forma kolorektálního tumoru – 1. studie

	Segmentální resekce	TAC/IRA
Počet pacientů	253	43
Pacienti s endoskopickým dohledem	221 (87 %)	38 (88 %)
Pacienti s metachronní CRC	55 (25 %)	3 (8 %)
Průměrná doba objevení 2. CRC (měsíc)	69	227
Časový rozsah endoskopického vyšetření (měsíc)	20	16

(Pacienti se segmentální kolektomií mají vysoké riziko vzniku adenomů a karcinomů)

Zdroj: NCBI (2016)

Tab. 4: Úplná kolektomie s ileorektální anastomózou vs. segmentální resekce u HNPCC: Metachronní forma kolorektálního tumoru – 2. studie

	Segmentální resekce	TAC/IRA
Počet pacientů	69	37
Pacienti s metachronní CRC	23 (33 %)	4 (11 %)
Průměrná doba objevení 2. CRC (měsíc)	6-160	16-175
Časový rozsah endoskopického vyšetření (měsíc)	20	16

(Pacienti se segmentální kolektomií a úplnou kolektomií v této studii nevykazovali výrazné rozdíly)

Zdroj: NCBI (2016)

Tab. 5: Úplná kolektomie s ileorektální anastomózou vs. segmentální resekce u HNPCC: Metachronní forma kolorektálního tumoru – 3. studie

	Segmentální resekce	TAC/IRA
Počet pacientů	332	50
Pacienti s metachronní CRC	74 (22 %)	0 (0 %)
Časový rozsah endoskopického vyšetření (měsíc)	20	16

(Pacienti se segmentální kolektomií mají vyšší riziko vzniku adenomů a karcinomů než pacienti s úplnou kolektomií)

Zdroj: NCBI (2016)

Kontroly u pacientů s TAC/IRA by měly být prováděny alespoň jednou ročně. Kontrola zahrnuje přípravu pomocí klystýru a může být bez podání sedativ. Po segmentální kolektomií musí být sliznice kontrolována každé 1 až 2 roky. Vyšetření segmentální kolektomie vyžaduje standardní přípravu střev, jako např. sedativa, pracovní neschopnost z důvodu dehydratace aj. Je zapotřebí zdůraznit, že ani

dokonalý dohled nebo screening neubrání pacienta od rozvoje metachronního CRC, pouze minimalizuje jeho výskyt (Baucom *et al.*, 2012).

Podle některých studií by měla být TAC/IRA nabízena pacientům s LS pouze za určitých okolností, např. těm, u kterých je tlusté střevo obtížně hodnotitelné pomocí kolonoskopie, nebo u jedinců s psychickou úzkostí vyvolanou strachem z rozvoje CRC. Prozatím nebyly statisticky prokázány rozdíly v přežití u jedinců se segmentální resekcí a TAC/IRA. Pro vyhodnocení kvality života u jedinců po zákroku jsou zapotřebí další studie (Šilarová, 2014).

3.5.2 Chemoprevence

Snaha o prevenci a oddálení rozvoje nádorového onemocnění tlustého střeva a konečníku v rámci HNPCC vedla k pokusu použití lékařské terapie s názvem „chemoprevence“.

Byly zrealizovány preklinické studie na buněčných liniích a myších modelech. Tyto studie byly užitečné pro přímé lidské chemopreventivní testování lidí, ale ne vždy tyto modely zcela napodobovaly lidskou situaci s deficitem DNA MMR proteinů (Heijink *et al.*, 2011).

Byly uskutečněny i observační studie, které se zabývaly riziky CRC v normálních populacích. Během testování byla použita činidla, která by mohla být dále využívána jako chemoprevence. Mezi tato činidla patří kyselina acetylsalicylová (aspirin), nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID) a doplňky, jako je vápník a vitamín D (Baucom *et al.*, 2012).

Z těchto NSAID byl nejlépe hodnocen aspirin. Kyselina acetylsalicylová se podílí na zvyšování produkce MMR proteinů u deficitních buněk MMR. U pacientů se sporadickým kolorektálním adenomem byla při podávání aspirinu (600 mg/den) zamezena tvorba nových adenomů. Náhodné studie zprostředkované CAPP2 (Colorectal Adenoma/carcinoma Prevention Project 2; kolorektální adenom/karcinom preventivní program 2) analyzovaly používání aspirinu a placebo u 693 pacientů s LS po dobu 4 let. Zpočátku nebyl vykazován příznivý efekt. Pět let po randomizaci se začaly lišit výsledky u pacientů užívajících placebo a aspirin. Devět let po studii bylo o 50 % méně případů s onemocněním rakovinou u skupiny

užívající aspirin, přestože většina účastníků užívání aspirinu po čtyřech letech testování přerušila. Výsledek byl evidentní u pacientů užívající aspirin déle než dva roky. V současné době se plánuje nasadit aspirin jako prevenci rakoviny Lynchova syndromu (Heijink *et al.*, 2011). Chemopreventivní činidla mohou umožnit oddálit intervaly mezi screeningy a pooperačními kontrolami, ne-li se jim vyhnout úplně, ale to bude vyžadovat další potvrzující studie (Baucom *et al.*, 2012).

3.5.3 Chemická léčba

Během posledních desetiletí došlo k významnému pokroku v léčbě kolorektálního karcinomu v oblasti chirurgie, radioterapie a systémové léčby. Operace je hlavním způsobem léčby u CRC, ale v mnoha případech mohou být použity také i chemické látky (Centelles, 2012).

Původně se adjuvantní (doplňková) chemoterapie skládala z 5-fluorouracilu (5-FU), 5-FU a levamisolu nebo 5-FU s leukovorinem. 5-fluorouracil patří do skupiny léků antimetabolitů a je podáván nitrožilně (intravenózní podání). Lék je derivátem uracilu a využívá stejný transportní mechanismus do buňky (Centelles, 2012). Léčba CRC může probíhat i monoterapií Capecitabinem. U šesti procent pacientů se prodloužilo období bez recidivy onemocnění po aplikaci kombinace 5-fluorouracilu a oxaliplatiny (Centelles, 2012). Oxaliplatina je indikována v kombinaci s 5-fluorouracilem a kyselinou folinovou. Podání je nitrožilní. Používá se k adjuvantní léčbě karcinomu tlustého střeva III. stupně a k léčbě metastazujícího karcinomu tlustého střeva (SÚKL¹, 2016).

Novými medikamenty jsou protilátky proti EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor; receptor epidermálního růstového faktoru) a VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor; vaskulární endoteliální růstový faktor). Tyto medikamenty jsou důležité pro léčbu pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem. Ve fázi výzkumu se nyní nachází několik inhibitorů kináz a antimetabolitů (Centelles, 2012).

Několik studií se zabývalo zastavením buněčné proliferace pomocí inhibice syntézy ribóza-5-fosfátu. Ve většině případů je léčba založena na inhibici syntézy dusíkatých bází, takže nukleotidy nejsou syntetizovány a inkorporovány do DNA

rostoucí rakovinné buňky. Méně často se ale také využívá léčba založená na inhibici jiné části nukleotidu: ribóza-5-fosfátu, resp. deoxyribóza-5-fosfátu (Centelles, 2012).

Další typy léčby jsou založeny na antioxidačních vlastnostech flavonoidů a přírodních látek. V tomto směru existuje mnoho studií, které vykazaly příznivé účinky pití zeleného čaje, červeného vína, konzumace čokolády a dalších přírodních produktů (Centelles, 2012).

Další léky využívané v léčbě CRC jsou: irinotecan, kurkumin a statiny (Šilarová, 2014). Irinotecan patří do skupiny léků nazývaných cytostatika (protinádorové léky) a podává se intravenózně. Používá se k léčbě pokročilého stadia rakoviny tlustého střeva a konečníku (SÚKL², 2016). Kurkumin je v současné době ve fázi klinických zkoušek u různých typů rakoviny. Statiny včetně lovastatinu, fluvastatinu, simvastatinu, pravastatinu a cerivastatinu jsou inhibitory 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductázy (HMG-CoA-reduktáza). Tyto léky jsou používány pro léčení poruch metabolismu tuků (Centelles, 2012).

3.6 Preventivní léčba

V rámci preventivní léčby jsou doporučována následující vyšetření: celkové vyšetření lékařem, kolonoskopie, gynekologické vyšetření, transvaginální ultrazvuk a marker CA125 (Cancer Antigen 125), aspirační biopsie endometria, ultrazvuk břicha, vyšetření moči, gastrokopie, samovyšetření prsu, mamografické vyšetření a urologické vyšetření (Tab. 6). Další formou prevence je strava s vysokým obsahem vlákniny (rajčata, mrkev, banán, brambory ap.) a nízkým podílem živočišných tuků, dále udržování ideální tělesné hmotnosti atp. (Zavoral *et al.*, 2016).

Tab. 6: Doporučení ke sledování pacientů s HNPCC

Název vyšetření	Frekvence vyšetření	Počáteční věk (od)
Celkové vyšetření lékařem (gastroenterolog, onkolog)	1x/rok	18
Kolonoskopie	1x/2 roky	20
Gynekologické vyšetření	1x/rok	18
Transvaginální ultrazvuk + marker CA125	1x/rok 2x/rok	20 30
Aspirační biopsie endometria, včetně cytologického stěru děložní sliznice	1x/rok	30(*)
Ultrazvuk břicha	1x/rok	30
Vyšetření moči (chemické vyšetření močového sedimentu)	1x/rok	30
Gastroskopie	1x/3-4 roky	35(**)
Samovyšetření prsu, ultrazvukové vyšetření; Mamografické vyšetření	1x/rok 1x/rok	35 45
Urologické vyšetření + PSA (prostatický specifický antigen)	1x/rok	40

(*) nebo o 10–15 let dříve, než byl věk v době vzniku endometriálního nádoru v rodině

(**) nebo o 5–10 let dříve, než byl věk v době vzniku tumoru žaludku v rodině

Zdroj: Plevová *et al.*, 2009 In Šilarová, 2014

3.7 Incidence

Incidence Lynchova syndromu je mezi 1 : 2000 a 1 : 660 (Chapelle, 2005). Z 1 023 152 celosvětově hlášených nálezů kolorektálního karcinomu tvoří Lynchův syndrom 2 až 5 % případů za rok (Linkos¹, 2016). V České republice je odhadován výskyt LS na cca 10 500 lidí (Hadravský *et al.*, 2016). V Tab. 7 jsou porovnávána rizika vzniku karcinomu tlustého střeva mezi pohlavími v České republice. Z Tab. 8 je patrné, že kolorektální karcinom zaujímá v České republice ze všech nádorových onemocnění první pozici.

Tab. 7: Riziko vzniku karcinomu tlustého střeva u jedinců s Lynchovým syndromem

Pohlaví	Celoživotní riziko(%)
Muži	28–75
Ženy	24–52

Zdroj: Lynch (2016)

Tab. 8: Predikované hodnoty incidence zhoubných nádorů na celkový počet obyvatel v České republice pro rok 2016

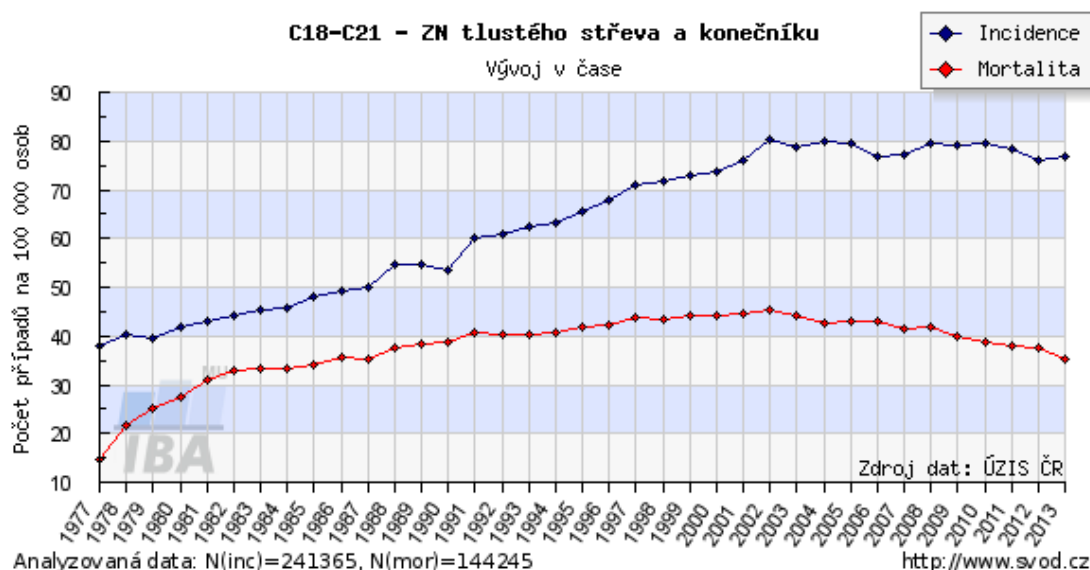
Diagnóza	Incidence
Kolorektální karcinom	8037
Karcinom prostaty	7784
Karcinom prsu	6988
Zhoubný nádor slinivky břišní	2325
Zhoubný nádor těla děložního	2007
Zhoubný nádor žaludku	1607
Zhoubný nádor vaječníku	1026
Zhoubný nádor děložního hrdla	1003
Zhoubný nádor varlete	453

Zdroj: Onconet (2016)

Nejrozšířenějším onemocněním s Lynchovým syndromem je v České republice rakovina tlustého střeva a konečníku. Statistika případů rakoviny tlustého střeva a konečníku je zaznamenávána od roku 1977 a v současné době jsou k dispozici data zpracovaná do roku 2013 (Graf 1). Incidence rakoviny tlustého střeva a konečníku byla nejvyšší v roce 2002. Oproti tomu nejméně případů bylo v roce 1977. Od roku 2002 je tendence výskytu tohoto typu rakoviny stagnující. Nejvyšší mortalita u daného typu rakoviny byla evidována v roce 1997 (Graf 1). Dalším rozšířeným onemocněním v ČR je u ženského pohlaví rakovina endometria (Graf 2). Nejvíce hlášených případů této rakoviny bylo v roce 2006. Nejméně případů bylo zaevidováno v roce 1978. Od roku 1977 do roku 2013 nebyly zaznamenány výrazné rozdíly ve výskytu rakoviny endometria. Nejvyšší úmrtnost na toto onemocnění byla v roce 1999 (Graf 2). U mužského pohlaví se v současné době vyskytuje značné

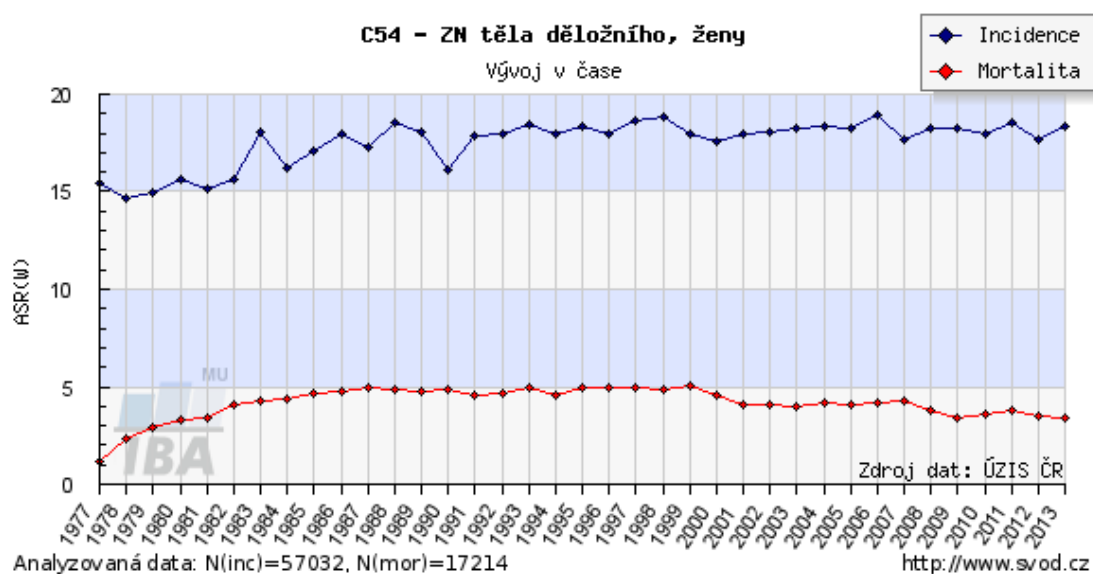
množství případů rakoviny prostaty (Graf 3). Incidence tohoto onemocnění v posledních letech výrazně vzrostla. V roce 2010 bylo hlášeno nejvíce případů zhoubných nádorů předstojné žlázy. Nejnižší počet zaevidovaných případů s tímto onemocněním bylo v roce 1977. Mezi roky 1977–2013 došlo k výraznému nárůstu daného onemocnění. Nicméně mortalita na rakovinu prostaty se za toto období výrazně nezvýšila, což lze připsat kvalitnější úrovni lékařské péče o pacienty (Graf 3). Grafy zobrazují časový vývoj hrubé incidence (počet nových případů na 100 000 osob) a hrubé mortality (počet úmrtí na diagnózu na 100 000 osob) v celé populaci (SVOD¹, 2016).

Graf 1: Vývoj rakoviny tlustého střeva a konečníku v letech 1977–2013



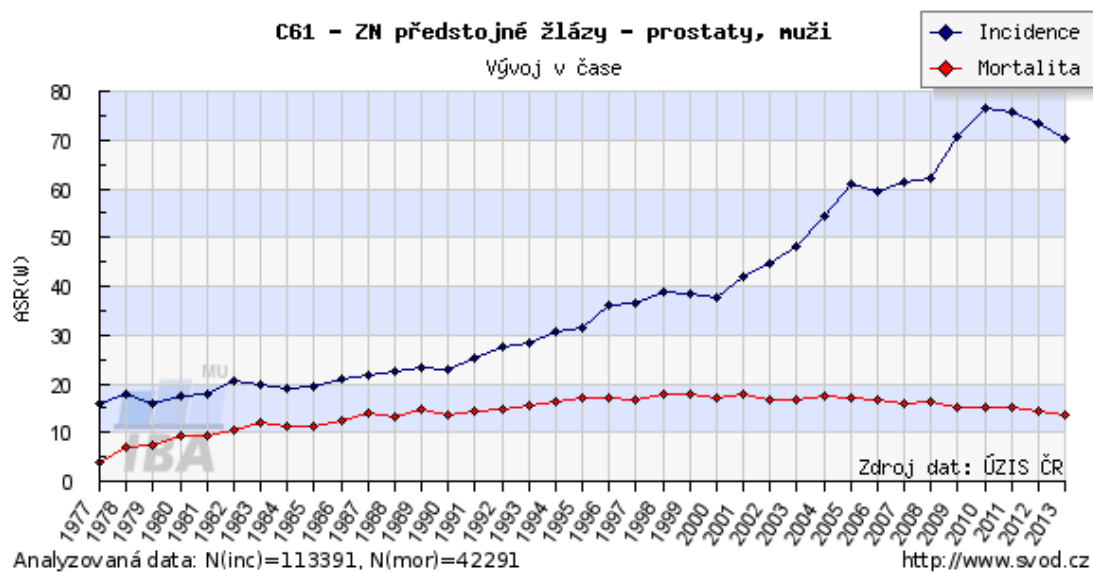
Zdroj: SVOD (2016)

Graf 2: Vývoj rakoviny endometria v letech 1977–2013



Zdroj: SVOD (2016)

Graf 3: Vývoj rakoviny prostaty v letech 1977–2013

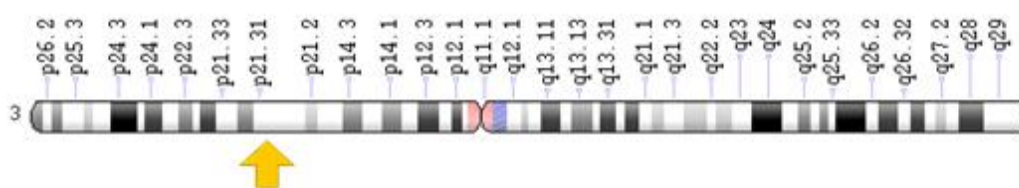


Zdroj: SVOD (2016)

3.8 Shrnutí molekulárních variant LS

3.8.1 *MLH1*

Gen *MLH1* (*MutL Homolog 1*) kóduje protein MLH1, který hraje zásadní roli při reparaci DNA. Tento protein pomáhá opravovat chyby vzniklé v průběhu replikace DNA. MLH1 protein se spojuje s dalším proteinem PMS2 (kódovaný genem *PMS2*) a vytváří proteinový komplex, který koordinuje činnost dalších proteinů, zapojených do reparace chyb vzniklých během replikace DNA. Při opravě dojde k odstranění části DNA a jejímu nahrazení opravenou sekvencí DNA. Gen *MLH1* náleží do tzv. MMR genů. Genetické změny genu *MLH1* souvisí s onemocněním Lynchova syndromu a rakovinou vaječníků. Gen je lokalizován na 3p21.3 chromozomu člověka (Obr. 8) - (GHR², 2016).

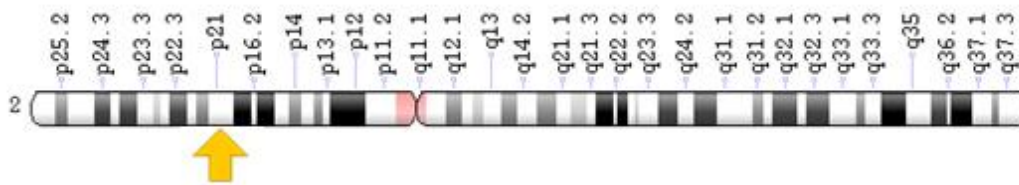


Obr. 8: Lokalizace genu *MLH1*

Zdroj: GHR (2016)

3.8.2 *MSH2*

Gen *MSH2* (*MutS Homolog 2*) kóduje stejnojmenný protein, který má, podobně jako *MLH1*, zásadní roli při opravě DNA. I tento protein napomáhá opravovat chyby vzniklé v průběhu replikace DNA. Protein MSH2 vytváří komplex s jedním ze dvou dalších proteinů MSH6 nebo MSH3. Proteinový komplex identifikuje místa na DNA, kde vznikly během replikace DNA chyby. Další skupina proteinů, vytvářející proteinový komplex MLH1-PMS2, tyto chyby opraví. Také gen *MSH2* patří do skupiny genů MMR. Zárůdečné mutace genu *MSH2* se vyskytují u onemocnění Lynchova syndromu a rakoviny vaječníků. Je lokalizován na chromozomu 2p21 (Obr. 9) - (GHR³, 2016).

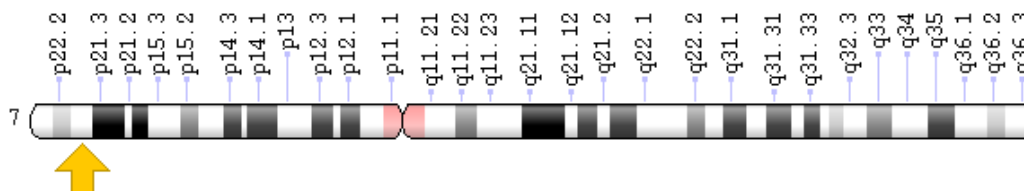


Obr. 9: Lokalizace genu *MSH2*

Zdroj: GHR (2016)

3.8.3 *PMS2*

Gen *PMS2* (*PMS1 Homolog 2*) kóduje protein PMS2, který se rovněž významným způsobem účastní reparace DNA. PMS2 protein se spojuje s dalším proteinem MLH1 (kódovaný genem *MLH1*). Daný komplex koordinuje činnost dalších proteinů, který opraví chyby v DNA vzniklé během replikace. Genetické změny genu *PMS2* souvisí s onemocněním: Lynchův syndrom a rakovina vaječníků. Chromozomová lokalizace genu *PMS2* je 7p22.2 (Obr. 10) - (GHR⁴, 2016).



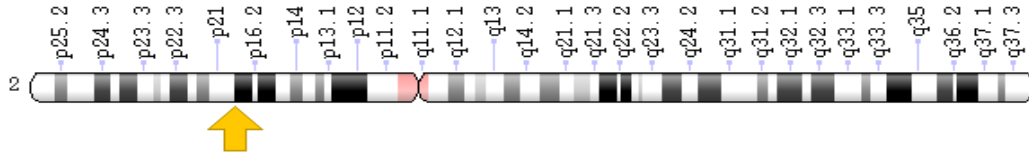
Obr. 10: Lokalizace genu *PMS2*

Zdroj: GHR (2016)

3.8.4 *MSH6*

Gen *MSH6* (*MutS Homolog 6*) kóduje protein MSH6, který se významně podílí na opravě DNA. Protein MSH6 se spojí s dalším proteinem MSH2 (vzniklým z genu *MSH2*), aby se vytvořil proteinový komplex. Komplex identifikuje místa na DNA, kde vznikly chyby během replikace DNA. Další skupina proteinů, což je proteinový komplex MLH1-PMS2, chyby opraví. Gen *MSH6* patří do skupiny genů MMR. Záradečné mutace genu *MSH6* se vyskytují u onemocnění: Lynchův syndrom a

rakovina vaječníků. Umístění na chromozomu je 2p16 (Obr. 11). Jiné označení pro tento gen je *GTBP* (GHR⁵, 2016).

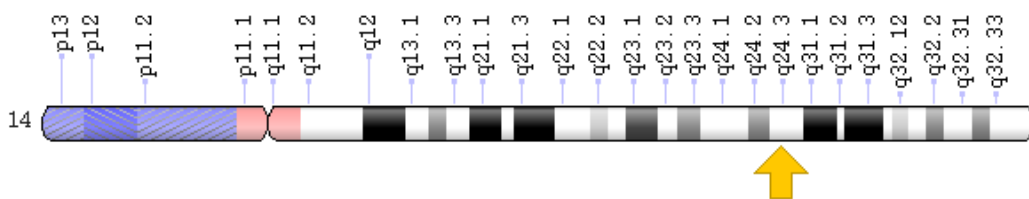


Obr. 11: Lokalizace genu *MSH6*

Zdroj: GHR (2016)

3.8.5 *MLH3*

Tento gen *MLH3* (*MutL Homolog 3*) je součástí skupiny MutL-homolog (MLH), která patří do kategorie MMR genů. *MLH* gen se podílí na udržení integrity genomu v průběhu replikace DNA a po meiotické rekombinaci („crossing-over“). Protein kódovaný tímto genem funguje jako heterodimer. Somatické mutace v tomto genu se často vyskytují v nádorech vykazujících mikrosatelitní nestabilitu a zárodečné mutace. Zárodečné mutace genu *MLH3* se vyskytují u onemocnění: rakovina endometria a kolorektální karcinom. Umístění na chromozomu je 14p24.3 (Obr. 12). Jiná označení pro tento gen: *HNPCC7* (GHR⁶, 2016).



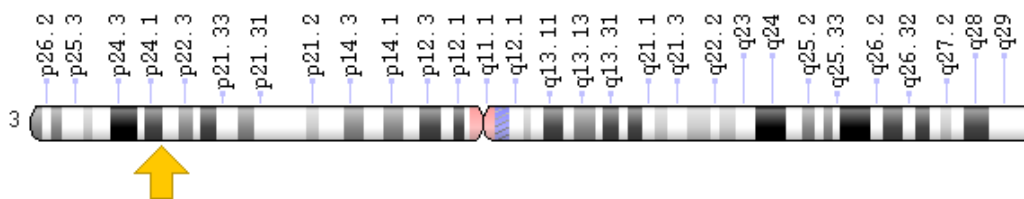
Obr. 12: Lokalizace genu *MLH3*

Zdroj: GHR (2016)

3.8.6 *TGFBR2*

Gen *TGFBR2* (*Transforming Growth Factor Beta Receptor II*) zajistí tvorbu proteinu, který je známý jako TGF- β receptoru typu 2. Prostřednictvím procesu

signální transdukce přenáší receptor signály z povrchu buňky dovnitř buňky. Pomocí tohoto typu signalizace ovlivňuje prostředí mimo buňku činnost uvnitř buňky, např. stimulací buněčného růstu a dělení. Záradečné mutace v genu *TGFBR2* se vyskytují u onemocnění familiárních aneurysmat a disekcí aorty a dále u rakoviny tračníku, konečníku a jícnu. Je odhadováno, že cca 30 % nádorů tračníku je způsobeno právě mutacemi tohoto genu. Umístění genu *TGFBR2* na chromozomu je 3p22 (Obr. 13). Jiná pojmenování pro tento gen jsou *MFS2* a *TGFβ-RII* (GHR⁷, 2016).



Obr. 13: Lokalizace genu *TGFBR2*

Zdroj: GHR (2016)

3.9 Závěr

Lynchův syndrom je dědičné autozomálně dominantní onemocnění. Projevuje se vznikem mnohačetných zhoubných nádorů v převážně nízkém věku. Nejčastějším projevem Lynchova syndromu je rakovina tlustého střeva. U žen s LS je největší riziko onemocnění rakovinou endometria, u mužů rakovinou prostaty. Onemocnění je způsobeno mutacemi genů *MLH1*, *MSH2*, *PMS2*, *MSH6*, *MLH3* a *TGFBR2*.

Diagnostika je založena na Amsterdamských kritériích a genetickém testování. Genetické testování se skládá z histologického vyšetření, testu mikrosatelitní nestability, testu vyloučení mutací v genu *BRAF*, testu hypermetylace promotoru genu *MLH1* a imunohistochemického vyšetření DNA MMR proteinů.

V současné době je potřeba dávat důraz na prevenci a informovat o její nutnosti veřejnost. Určitým typem prevence může být i užívání aspirinu, ale tato myšlenka je nadále ve stadiu výzkumu. Dalším krokem k minimalizaci rizika výskytu zhoubných nádorů spojených s Lynchovým syndromem je dodržování zdravého životního stylu.

4 Seznam použité literatury

4.1 Seznam literatury

1. Acharya, S., Foster, P. L., Brooks P., Fishel R., 2003. The coordinated functions of the E. coli MutS and MutL proteins in mismatch repair. *Mol. Cell.* 12: 233-246.
2. Acharya, S., Wilson, T., Gradia S., Kane M. F., Guerrette, S., Marsischky, G. T., Kolodner R., Fishel R., 1996. hMSH2 forms specific mispair-binding complexes with hMSH3 and hMSH6. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 93: 13629-13634.
3. Baucom, R. B., Wise P. E., 2012. Endoscopic and surgical management of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin. Colon. Rectal. Surg.* 25: 90-6.
4. Blackwell, L. J., Shuntai, W., Modrich, P., 2001. DNA chain length dependence of formation and dynamics of hMutSa.hMutLa.heteroduplex complexes. *J. Biol. Chem.* 276: 33233-33240.
5. Boland, C. R., Goel, A., 2010. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroent.* 138: 2073-2087.
6. Boland, C. R., Thibodeau, S. N., Hamilton, S. R., Sidransky, D., Eshleman, J. R., Burt, R. W., Meltzer, S. J., Rodriguez- Bigas, M. A., Fodde, R., Ranzani, N., Srivastava, S., 1998. A National Cancer Institute workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Can. Res.* 58: 5248-5257.
7. Bougeard, G., Faivre- Olivier L., Baert-Desurmont S., 2014. Diversity of the clinical presentation of the MMR gene biallelic mutations. *Fam. Canc.* 13: 131-135.
8. Bronner, C. E., Baker, S. M., Morrison, P. T., Warren., G., Smith, L. G., Lescoe, M. K., Kane M., Earabino, C., Lipford, J., Lindlom, A. et al., 1994. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nat.* 368: 258-261.
9. Cancer Genome Atlas Network., 2012. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nat.* 487: 330-337.
10. Centelles, Josep J., 2012. General Aspects of Colorectal Cancer. *I. S. R. N. Onc.* 2012: 1-19.

11. Clendenning, M., Hampel, H., LaJeunesse, J., Lindblom A., Lockman, J., Nilbert, M., Senter, L., Sotamaa, K., de la Chapelle, A., 2006. Long-range PCR facilitates the identification of PMS2-specific mutations. *Hum. Mutat.* 27: 490-495.
12. Constantin, N., Dzantiev, L., Kadyrov, F. A., Modrich, P., 2005. Human mismatch repair: reconstitution of a nick-directed bidirectional reaction. *J. Biol. Chem.* 280: 39752-39761.
13. Cunningham, J. M., Christensen, E. R., Tester, D. J., Kim, C. Y., Roche, P. C., Burgart L. J., Thibodeau, S. N., 1998. Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Can. Res.* 58: 3455-3460.
14. *Česká onkologická společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně*¹ [online]. [cit. 2016-03-11]. Dostupné z: <http://www.linkos.cz/asco/chapter/molekularni-genetika-a-hereditarni-kolorektalni-karcinom-reseni-diagnostickeho-dilematu-hereditarniho-nepolypozniho-kolorektalniho-karcinomu-lynchova-syndromu-familiarniho-kolorektalniho-karcinomu-typu-x-a-syndromu-mnohocetne-polypozy/>
15. Daum, O., Beneš, Z., Hadravský, L., Stehlík, J., Černá K., Dušek, M., Kokošková, B., Michal, M., 2014. Lynchův syndrom v rukách patologa. *Česko-slovenská patologie.* 50: 18-24.
16. Deng, G., Bell, I., Crawley, S., Gum, J., Terdiman, J. P., Allen, B. A., Truta, B., Sleiseinger, M. H., Kim, Y. S., 2004. BRAF mutation is frequently present in sporadic colorectal cancer with methylated hMLH1, but not in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin. Can. Res.* 10: 191-195.
17. Deschoolmeester, V., Baay, M., Marck, E. V., Weyler, J., Vermeulen, P., Lardon, F., Vermorken, J. B., 2010. Tumor infiltrating lymphocytes: an intriguing player in the survival of colorectal cancer patients. *B.M.C. Immun.* 11: 19.
18. Domingo, E. Laiho, P., Ollikainen, M., Pinto, M., Wang, L., French, A. J., Westra, J., Frebourg, T., Espín, E., Armengol, M., Hamelin, R., Yamamoto, H., Hofstra, R. M., Seruca, R., Lindblom, A., Peltomäki, P., Thibodeau, S. N., Aaltonen, L. A., Schwartz, S. Jr., 2004. BRAF screening as a low-cost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing. *J. Med. Genet.* 41: 664-668.

19. Douglas, J. A., Gruber, S. B., Meister, K. A., Bonner, J., Watson, P., Krush, A. J., Lynch, H. T., 2005. History and molecular genetics of Lynch syndrome in Family G: a century later. *J. A. M. A.* 294: 2195-2202.
20. Duval, A., Hamelin, R., 2002. Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers: toward a new concept of target genes for instability. *Canc. Res.* 62: 2447-2454.
21. *Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice*¹ [online]. [cit. 2016-04-08]. Dostupné z: <http://www.svod.cz/>
22. Fishel, R., Lescoe, M. K., Rao, M. R. S, Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Garber, J., Kane, M., Kolodner, R., 1993. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell.* 75:1027-1038.
23. Genetics Home Reference¹. *U. S. National library of medicine* [online] . [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/about>
24. Genetics Home Reference². *U. S. National library of medicine* [online]. [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MLH1#>
25. Genetics Home Reference³. *U. S. National library of medicine* [online]. [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MSH2#>
26. Genetics Home Reference⁴. *U. S. National library of medicine* [online]. [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/PMS2#>
27. Genetics Home Reference⁵. *U. S. National library of medicine* [online] . [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MSH6#>
28. Genetics Home Reference⁶. *U. S. National library of medicine* [online]. [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MLH3#>
29. Genetics Home Reference⁷. *U. S. National library of medicine* [online]. [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TGFBR2#>
30. Geng, H., Sakato, M., DeRocco, V., Yamane, K., Du, Ch., Erie, D. A., Hingorani, M., Hsieh, P., 2012. Biochemical analysis of the human mismatch repair proteins hMutSα MSH2 (G674A) – MSH6 and MSH2–MSH6(T1219D). *J. Biol. Chem.* 287: 9777-9791.
31. Gradia, S, Subramanian, D., Wilson, T., Acharya, S., Makhov, A., Griffith, J., Fishel, R., 1999. hMSH2–hMSH6 forms a hydrolysis-independent sliding clamp on mismatched DNA. *Mol. Cell.* 3: 255-26.

32. Gradia, S., Acharya, S., Fishel, R., 1997. The human mismatch recognition complex hMSH2–hMSH6 functions as a novel molecular switch. *Cell*. 91: 995-1005.
33. Hadravský, L., Daum, O., Michal, M. *Lynchův syndrom* [online]. [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <http://www.lynch.cz/>
34. Halvarsson, B., Müller, W., Planck, M., Benoni, A. C., Mangell, P., Ottoson, J., Hallén, M., Isinger, A., Nilbert, M., 2007. Phenotypic heterogeneity in hereditary non-polyposis colorectal cancer: identical germline mutations associated with variable tumour morphology and immunohistochemical expression. *J. Clin. Pathol.* 60: 781-786.
35. Hampel, H., Frankel, W. L., Martin, E., Arnold, M., Khanduja, K., Kuebler, P., Clendenning, M., Sotamaa, K., Prior, T., Westman, J. A., Panescu, J., Fix, D., Lockman, J., LaJeunesse, J., Comeras, I., de la Chapelle, A., 2008. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 26: 5783-5788.
36. Hegde, M., Ferber, M., Mao, R., Samowitz, W., Ganguly, A., *et al.*, 2014. ACMG technical standards and guidelines for genetic testing for inherited colorectal cancer (Lynch syndrome, familial adenomatous polyposis, and MYH-associated polyposis). *Gen. Med.* 16: 101-116.
37. Heijink, D. M., de Vries, E. G. E., Koornstra, J. J., Hospers, G. A. P., Hofstra, R. M., W., van Vugt, M. A. T. M., de Jong, S., Kleibeuker, J. H., 2011. Perspectives for tailored chemoprevention and treatment of colorectal cancer in Lynch syndrome. *Crit. Rev. On. Hem.* 80: 264-27.
38. Heinen, C. D., Rasmussen, L. J., 2012. Determining the functional significance of mismatch repair gene missense variants using biochemical and cellular assays. *Her. Can. Clin. Prac.* 10: 9.
39. Hendriks, Y. M. C., Wagner, A., Morreau, H., Menko, F., Stormorken, A., Quehenberger, F. *et al.*, 2004. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer due to MSH6 mutations: impact on counseling and surveillance. *Gastroen.* 127:17-25.
40. Hienonen, T., Laiho, P., Salovaara, R., Mecklin, J. P., Sistonen, P., Aaltonen, L. A. *et al.*, 2003. Little evidence for involvement of MLH3 in colorectal cancer predisposition. *Int. J. Can.* 106: 292-296.

41. Hitchins, M. P., 2013. The role of epigenetics in Lynch syndrome. *Fam. Can.* 12: 189-205.
42. Hitchins, M. P., Wong, J. J., Suthers, G., Suter, C. M., Martin, D. I., Hawkins, N. J., Ward, R. L., 2007. Inheritance of a cancer-associated MLH1 germ-line epimutation. *N. Engl. J. Med.* 356: 697-705.
43. Hitchins, M., Rapkins, R. W., Kwok, C. T., Srivastava, S., Wong, J. J., Khachigian, L. M., Polly, P., Goldblatt, J., Ward, R. L., 2011. Dominantly inherited constitutional epigenetic silencing of MLH1 in a cancer-affected family is linked to a single nucleotide variant within the 5'UTR. *Can. Cell.* 20: 200-213.
44. Hitchins, M., Williams, R., Cheong, K., Halani, N., Lin, V. A. P., Packham, D., Ku, S., Buckle, A. *et al.*, 2005. MLH1 germline epimutations as a factor in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroen.* 129: 1392-1399.
45. Huang, J., Papadopoulos, N., McKinley, A. J., Farrington, S. M., Curtis, L. j., Wyllie, A. H., Zheng, S., Willson, J. K. *et al.*, 1996. APC mutations in colorectal tumors with mismatch repair deficiency. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 93: 9049-9054.
46. Chan, T. L., Yuen, S. T., Kong, C. K. *et al.*, 2006. Heritable germline epimutation of MSH2 in a family with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat. Gen.* 38: 1178-1183.
47. Chapelle, de la A., 2005. The incidence of Lynch syndrome. *Fam. Can.* 4: 233-237.
48. Chen P. C., Dudley, S., Hagen, W., Dizon, D., Paxton, L., Reichow, D., Yoon, S. R., Yang, K., Arnheim, N., Liskay, R. M., Lipkin, S. M., 2005. Contributions by MutL homologues Mlh3 and Pms2 to DNA mismatch repair and tumor suppression in the mouse. *Can. Res.* 65: 8662-8670.
49. Church, J. *et al.*, 2003. Collaborative Group of the Americas on Inherited Colorectal Cancer *et al.* Practice parameters for the treatment of patients with dominantly inherited colorectal cancer (familial adenomatous polyposis and hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *Dis. Col. Rec.* 46: 1001-1012.
50. Kacerovska, D., Kazakov, D., Černá, K., Michal, M. *Lynchův syndrom* [online]. [cit. 2016-03-16]. Dostupné z: <http://www.lynych.cz/Muir-Torre-syndrom/>

51. Kadyrov, F. A., Dzantiev, L., Constantin, N., Modrich, P., 2006. Endonucleolytic function of MutL α in human mismatch repair. *Cell*. 126: 297-308.
52. Kalady, M. F, McGannon, E., Vogel, J. D., Manilich, E., Fazio, V. W., Church, J. M., 2010. Risk of colorectal adenoma and carcinoma after colectomy for colorectal cancer in patients meeting Amsterdam kriteria. *Ann. Surg.* 252: 507-511.
53. Kane, M. F., Loda, M., Gaida, G. M., Lipman, J., Mishra, R., Goldman, H., Jessup, J. M., Kolodner, R., 1997. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Can. Res.* 57: 808-811.
54. Knudson, A. G. Jr., 1985. Hereditary cancer, oncogenes, and antioncogenes. *Can. Res.* 45: 1437-1443.
55. Korhonen, M. K., Vuorenmaa, E., Nyström, M., 2008. The first functional study of MLH3 mutations found in cancer patients. *Gen. Chrom. Can.* 47: 803-809.
56. Lanspa, S. J., Jenkins, J. X., Cavalieri, R. J., Lynch., H. T., 1994. Surveillance in Lynch syndrome: how aggressive? *Am. J. Gastroen.* 89:1978-1980.
57. Leach, F. S., Nicolaides, N. C., Papadopoulos, N., Liu, B., Jen, J., Parsons, R. *et al.*, 1993. Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell*. 75: 1215-1225.
58. Ligtenberg, M. J. L. *et al.*, 2009. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1. *Nat. Gen.* 41: 112-117.
59. Lindblom, A., Kuiper, R. P., Chan, T. L., Goossens, M., Hebeda, K. M., Lee, T. Y., Voorendt, M., Bodmer, D. *et al.*, 1993. Genetic mapping of a second locus predisposing to hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat. Gen.* 5: 279-282.
60. Lipkin, S. M., Wang, V., Jacoby, R., Lynch, H. T. *et al.*, 2000. MLH3: a DNA mismatch repair gene associated with mammalian microsatellite instability. *Nat. Gen.* 24: 27-34.
61. Liu, H. X., Zhou, X. L., Liu, T., Werelius, B., Lindmark, G., Dahl, N., Lindblom, A., 2003. The role of hMLH3 in familial colorectal cancer. *Can. Res.* 63: 1894-1899.

62. Liu, T., Yan, H., Kuismanen, S., Percesepe, A., Bisgaard, M. L., Pedroni, M., *et al.*, 2001. The role of hPMS1 and hPMS2 in predisposing to colorectal cancer. *Can. Res.* 61: 7798-7802.
63. Loeb, L. A., Springgate, C. F., Battula, N., 1974. Errors in DNA replication as a basis of malignant changes. *Can. Res.* 34: 2311-2321.
64. Lynch P. M., Lynch, H. T., Lynch, M. D., Harris, R. E., 1977. Hereditary proximal colonic cancer. *Dis. Col.Rec.* 20: 661- 668.
65. Lynch, H. T., de la Chapelle, A., 1999. Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer. *Gen. Med.* 36: 801- 818.
66. Lynch, H. T., Lynch, J. F., Shaw, T. G., Lubiński, J., 2003. HNPCC (Lynch Syndrome): Differential Diagnosis, Molecular Genetics and Management - a Review. *Can. Clin. Prac.* 1: 7-18.
67. Lynch, H. T., Lynch, P. M., Lanspa, S. J., Snyder, C. L., Lynch, J. F., Boland, C. R., 2009. Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin. Gen.* 76: 1-18
68. Lynch, H. T., Shaw, M. W., Magnuson, C. W., Larsen, A. L., Krush, A. J., 1966. Hereditary factors in cancer: study of two large Midwestern kindreds. *Ar. Int. Med.* 117: 206-212.
69. Lynch, H. T., Snyder, C. L., Shaw, T. G., Heinen, Ch. D., Hitchins, M. P., 2015. Milestones of Lynch syndrome: 1895–2015. *Nat. Rev. Can.* 15: 181-194.
70. Mangold, E., Pagenstecher, C., Leister, M., Mathiak, M., *et al.*, 2004. A genotype-phenotype correlation in HNPCC: strong predominance of MSH2 mutations in 41 patients with Muir –Torre syndrome. *J. Med. Gen.* 41: 567-572.
71. Markowitz, S. D., Roberts, A. B., 1996. Tumor suppressor activity of the TGF- β pathway in human cancers. *Cyt.Grow. Fac. Rev.* 7: 93-102.
72. Markowitz, S., Wang, J., Myeroff, L., Parsons, R., Sun, L., Lutterbaugh, J., Fan, R. S., Zborowska, E., Kinzler, K. W. *et al.*, 1995. Inactivation of the type II TGF- β receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Sci.* 268: 1336-1338.
73. Marshall, B., Isidro, G., Boavida, M. G., 1996. Insertion of a short Alu sequence into the hMSH2 gene following a double cross over next to sequences with chi homology. *Gen.* 174: 175-179.

74. McGivern, A., Wynter, C. V., Whitehall, V. L., Kambara, T., Spring, K. J., Walsh, M. D. *et al.*, 2004. Promoter hypermethylation frequency and *BRAF* mutations distinguish hereditary non-polyposis colon cancer from sporadic MSI-H colon cancer. *Fam. Can.* 3: 101-107.
75. Miyaki, M., Konishi, M., Tanaka, K., Muraoka, M., Yasuno, M. *et al.*, 1997. Germline mutation of *MSH6* as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat. Gen.* 17: 271-272.
76. Morak, M., Koehler, U., Schackert, H. K., Steinke, V. *et al.*, 2011. Biallelic *MLH1* SNP cDNA expression or constitutional promoter methylation can hide genomic rearrangements causing Lynch syndrome. *J. Med. Genet.* 48: 513-519.
77. Mori, Y., Yin, J., Rashid, A., Leggett, B. A., Young, J., Simms, L., Kuehl, P. M. *et al.*, 2001. Instability typing: comprehensive identification of frameshift mutations caused by coding region microsatellite instability. *Can. Res.* 61: 6046-6049.
78. Natarajan, N., Watson, P., Silva-Lopez, E., Lynch, H. T., 2010. Comparison of extended colectomy and limited resection in patients with Lynch syndrome. *Dis Col. Rec.* 53: 77-82.
79. Nicolaides, N. C., Liu, B., Papadopoulos, N., Kinzler, K. W., 1994. Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nat.* 371: 75-80.
80. Nystrom-Lahti, M., Kristo, P., Nicolaides, N. C., Chang, S. Y., Aaltonen, L. A. *et al.*, 1995. Founding mutations and Alu-mediated recombination in hereditary colon cancer. *Nat. Med.* 1: 1203-1206.
81. Ou, J., Rasmussen, M., Westers, H., Andersen, S. D., Jager, P. O., Kooi, K. A. *et al.*, 2009. Biochemical characterization of *MLH3* missense mutations does not reveal an apparent role of *MLH3* in Lynch syndrome. *Gen. Chrom. Can.* 48: 340-350.
82. Papadopoulos, N., Nicolaides, N. C., Wei, Y. F., Ruben, S. M., Carter, K. C. *et al.*, 1994. Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Sci.* 263: 1625-1629.
83. Parry, S., Win, A. K., Parry, B., Kalady, M., Macrae, F. A., Lindor, N. M., Haile, R. W. *et al.*, 2011. Metachronous colorectal cancer risk for mismatch repair gene mutation carriers: the advantage of more extensive colon surgery. *Gut.* 60: 950-95.

84. Peltomäki, P., Gao, X., Mecklin, J. P., 2001. Genotype and phenotype in hereditary nonpolyposis colon cancer: a study of families with different versus shared predisposing mutations. *Fam. Can.* 1: 9-15.
85. Peltomäki, P., Tannergård, P., Werelius, B., Nordenskjöld, 1993. Genetic mapping of a locus predisposing to human colorectal cancer. *Sci.* 260: 810-812.
86. Percesepe, A., Kristo, P., Aaltonen, L. A., Ponz de Leon, M., de la Chapelle, A., Peltomäki, P., 1998. Mismatch repair genes and mononucleotide tracts as mutation targets in colorectal tumors with different degrees of microsatellite instability. *Oncogen.* 17: 157-163.
87. Plazzer, J. P., Sijmons, R. H., Woods, M. O., Thompson, B., Macrae, F. *et al.*, 2013. The InSiGHT database: utilizing 100 years of insights into Lynch syndrome. *Fam. Can.* 12: 175-180.
88. Plevová P., Novotný, J., Šachlová, M., Křepelová, A., Foretová, L., 2009. Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom. *Klin. Onkol.* 22: 12-15.
89. Pluciennik, A., Dzantiev, L., Iyer, R. R., Constantin, N., Kadyrov, F. A., Modrich, P., 2010. PCNA function in the activation and strand direction of MutL α endonuclease in mismatch repair. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 107: 16066-16071.
90. Pritchard, C. C., Smith, Ch., Salipante, S. J., Lee, M. K., Nord, A. S. *et al.*, 2012. ColoSeq provides comprehensive Lynch and polyposis syndrome mutational analysis using massively parallel sequencing. *J. Mol. Diagn.* 14: 357-366.
91. Rampino, N., Yamamoto, H., Ionov, Y., Li, Y., Sawai, H., Reed, J. C., Perucho, M., 1997. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Sci.* 275: 967-969.
92. Rasmussen, L. J., Christopher, D. H., Pokora-Royer, B., Drost, M. *et al.*, 2012. Pathological assessment of mismatch repair gene variants in Lynch syndrome. *Hum. Mutat.* 33: 1617-1625.
93. Ricciardone, M. D., Cevher, B., Tuncer, M., Tanyeli, A. *et al.*, 1999. Human MLH1 deficiency predisposes to hematological malignancy and neurofibromatosis type I. *Can. Res.* 59: 290-293.
94. Rodriguez-Bigas, M. A., Boland, C. R., Hamilton, S. R., Henson, D. E., Jass, J. R. *et al.*, 1997. A National Cancer Institute workshop on hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: meeting highlights and Bethesda Guidelines. *J. Nat. Can. Inst.* 89: 1758-1762.

95. Smith, R. A., von Eschenbach, A. C., Wender, R., Levin, B., Brooks, D. *et al.*, 2001. American Cancer Society Guidelines for the Early Detection of Cancer: Update of Early Detection Guidelines for Prostate, Colorectal, and Endometrial Cancers. *CA: A Can. Jour. for Clin.* 51: 38-75.
96. *Státní ústav pro kontrolu léčiv*¹ [online]. [cit. 2016-02-25]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0204391&tab=info>
97. *Státní ústav pro kontrolu léčiv*² [online]. [cit. 2016-02-25]. Dostupné z: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:D6yoGYG-JbQJ:www.sukl.cz/download/pil/PI102432.doc+&cd=1&hl=cs&ct=clnk&gl=cz>
98. Strand, M., Prolla, T. A., Liskay, R. M., Petes, T. D., 1993. Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. *Nat.* 365: 274-276.
99. ŠILAROVÁ, Sandra. *Sledování incidence nestability mikrosatelitů v nádorových buňkách karcinomu tlustého střeva pomocí imunohistochemického vyšetření exprese proteinů MLH1, MSH2 a MSH6*. Hradec Králové, 2014. Bakalářská práce. Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
100. Thibodeau, S. N., Bren, G. D., Schaid, D., 1993. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Sci.* 260: 816-819.
101. Thompson, B. A., Spurdle, A. B., Plazzer, J. P., Greenblatt, M. S. *et al.*, 2014. Application of a 5-tiered scheme for standardized classification of 2,360 unique mismatch repair gene variants in the InSiGHT locus-specific database. *Nat. Gen.* 46: 107-115.
102. Umar, A., Boland, C. R., Terdiman, J. P., Syngal, S., de la Chapelle, A. *et al.*, 2004. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J. Nat. Can. Inst.* 96: 1402-1403.
103. Vasen, H. F. A., Stormorken, A., Menko, F. H., Nagengast, F. M., Kleibeuker, J. H. *et al.*, 2001. MSH2 mutation carriers are at higher risk of cancer than MLH1 mutation carriers: a study of hereditary nonpolyposis colorectal cancer families. *J. Clin. Oncol.* 19: 4074-4080.
104. Vasen, H. F. A., Watson, P., Mecklin, J. P., Lynch, H. T., 1999. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroen.* 116: 1453-1456.

105. Vasen, H. F. A., Wijnen, J. T., Menko, F. H., Kleibeuker, J. H., Taal, B. G. *et al.*, 1996. Cancer risk in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer diagnosed by mutation analysis. *Gastroen.* 110: 1020-1027.
106. Vaughn, C. P., Baker, Ch. L., Samowitz, W. S., Swensen, J. J., 2013. The frequency of previously undetectable deletions involving 3' exons of the PMS2 gene. *Gen. Chrom. Can.* 52: 107-112.
107. Vaughn, C. P., Robles, J., Swensen, J. J., Miller, C. E., Lyon, E. *et al.*, 2010. Clinical analysis of PMS2: mutation detection and avoidance of pseudogenes. *Hum. Mutat.* 31: 588-593.
108. Veigl, M. L., Kasturi, L., Olechnowicz, J., Ma, A., Lutterbaugh, J. D., Periyasamy, S. *et al.*, 1998. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 95: 8698-8702.
109. Wagner, A., Hendriks, Y., de Leeuw, W. J. F., Murreau, H., Hofstra, R., Tops, C., Bik, E. *et al.*, 2001. Atypical HNPCC owing to MSH6 germline mutations: analysis of a large Dutch pedigree. *J. Med. Gen.* 38: 318-322.
110. Wang, Q., Lasset, Ch., Desseigne, F., Frappaz, D., Bergeron, Ch., Navarro, C., Ruano, E., Puisieux, A., 1999. Neurofibromatosis and early onset of cancers in hMLH1-deficient children. *Can. Res.* 59: 294-297.
111. Wijnen J. *et al.*, 1998. MSH2 genomic deletions are a frequent cause of HNPCC. *Nat. Gen.* 20: 326-328.
112. Wimmer, K., Wernstedt, A., 2014. PMS2 gene mutational analysis: direct cDNA sequencing to circumvent pseudogene interference. *Met. Mol. Biol.* 1167: 289-302.
113. Winawer, S., Fletcher, R., Rex, D., Bond, J., Burt, R., Ferrucci, J., Levin, T., Woolf, S., Kirk, L., Litin, S. *et al.*, 2003. Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale – update based on new evidence. *Gastroen.* 124: 544-560.
114. Wu, Y., Berends, M. J. W., Sijmons, R. H., Mensink, R., Kooi, K. A., Verlind, E., 2001. A role for MLH3 in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat. Gen.* 29: 137-138.
115. Zavoral, M., Ladmanová, P., *Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně* [online]. [cit.2016-03-30]. Dostupné z:

http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:V91sBVWHk_IJ:www.cls.cz/dokumenty2/os/r067.rtf+&cd=2&hl=cs&ct=clnk&gl=cz

116. Zhang, Y., Yuan, F., Presnell, S. R., Tian, K., Gao, Y., Tomkinson, A. E., Gu, L., Li, G. M., 2005. Reconstitution of 5'-directed human mismatch repair in a purified system. *Cell*. 122: 693-705.

4.2 Seznam obrázků a jejich zdrojů

1. Obr. 1: Rodokmen klasického Lynchova syndromu
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2846640/figure/F2/>
2. Obr. 2: Karcinom z prstenčitých buněk
http://www.pathpedia.com/education/eatlas/histopathology/appendix/signet-ring_cell_carcinoma,_appendix.aspx
3. Obr. 3: Vývoj kolorektálního karcinomu u jedince s Lynchovým syndromem
<http://www.nature.com/nrc/journal/v15/n3/images/nrc3878-f3.jpg>
4. Obr. 4: Absence proteinů MLH1 a PMS2
<http://www.lynch.cz/diagnostika.php>
5. Obr. 5: Absence proteinů MSH2 a MSH6
<http://www.lynch.cz/diagnostika.php>
6. Obr. 6: Lokalizace genu *BRAF*
<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRAF#location>
7. Obr. 7: Histologický snímek typického tumoru tlustého střeva
<http://www.lynch.cz/obr/obr-6-detail.jpg>
8. Obr. 8: Lokalizace genu *MLH1*
<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MLH1#location>
9. Obr. 9: Lokalizace genu *MSH2*
<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MSH2#location>
10. Obr. 10: Lokalizace genu *PMS2*
<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/PMS2#location>
11. Obr. 11: Lokalizace genu *MSH6*
<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MSH6#location>
12. Obr. 12: Lokalizace genu *MLH3*
<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MLH3#location>
13. Obr. 13: Lokalizace genu *TGFBR2*
<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TGFBR2#location>

4.3 Seznam tabulek a jejich zdrojů

1. Tab. 1: Rozdělení nádorů podle stability mikrosatelitů
Daum, O., Beneš, Z., Hadravský, L., Stehlík, J., Černá K., Dušek, M., Kokošková, B., Michal, M. (2014). Lynchův syndrom v rukách patologa. *Česko-slovenská patologie*. 50: 18-24.
2. Tab. 2: Fenotypová heterogenita způsobená zárodečnými mutacemi v MMR genech
http://www.nature.com/nrc/journal/v15/n3/fig_tab/nrc3878_T1.html
3. Tab. 3: Úplná kolektomie s ileorektální anastomózou vs. segmentální resekce u HNPCC: Metachronní forma kolorektálního tumoru – 1. studie
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20739851>
4. Tab. 4: Úplná kolektomie s ileorektální anastomózou vs. segmentální resekce u HNPCC: Metachronní forma kolorektálního tumoru – 2. studie
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20010355>
5. Tab. 5: Úplná kolektomie s ileorektální anastomózou vs. segmentální resekce u HNPCC: Metachronní forma kolorektálního tumoru – 3. studie
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21193451>
5. Tab.6: Doporučení ke sledování pacientů s HNPCC
Plevová P., Novotný, J., Šachlová, M., Křepelová, A., Foretová, L. (2009). Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom. *Klin Onkol*. 22: 12-15
ŠILAROVÁ, Sandra. *Sledování incidence nestability mikrosatelitů v nádorových buňkách karcinomu tlustého střeva pomocí imunohistochemického vyšetření exprese proteinů MLH1, MSH2 a MSH6*. Hradec Králové, 2014. Bakalářská práce. Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
6. Tab. 7: Riziko vzniku karcinomu tlustého střeva u jedinců s Lynchovým syndromem
<http://www.lynch.cz/>
7. Tab. 8: Predikované hodnoty incidence zhoubných nádorů na celkový počet obyvatel v České republice pro rok 2016
<http://www.onconet.cz/res/file/aktuality/2015-11-12-dusek.pdf>

4.4 Seznam grafů a jejich zdrojů

1. Graf č. 1: Vývoj rakoviny tlustého střeva a konečníku v letech 1977–2013
http://www.svod.cz/report.php?diag=C18_C21
2. Graf č. 2: Vývoj rakoviny endometria v letech 1977–2013
<http://www.svod.cz/analyse.php?modul=incmor#>
3. Graf č. 3: Vývoj rakoviny prostaty v letech 1977–2013
<http://www.svod.cz/report.php?diag=C61>

5 Seznam vybraných zkratek

ATP - Adenosine TriPhosphate; adenosintrifosfát

CAPP2 - Colorectal Adenoma/carcinoma Prevention Project 2; kolorektální adenom/karcinom preventivní program 2

CMMR-D - Constitutional Mismatch Repair Deficiency syndrom; syndrom konstitučního deficitu opravného systému

CRC - ColoRectal Cancer; kolorektální karcinom

DNA - DeoxyriboNucleic Acid; deoxyribonukleová kyselina

EGFR - Epidermal Growth Factor; epidermální růstový faktor

EPCAM - Epithelial Cell Adhesion Molecule; epiteliální buněčná adhezí molekula

FAP - Familial Adematous Polyposis; familiární adenomatózní polypóza

HMG-CoA-REDUKTÁZA - 3- hydroxy-3 methyl-glutaryl-CoA reduktáza

HNPCC - Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer; hereditární nepolypózní kolorektální karcinom

IDLs - Insertion or Deletion Loops; malé inzerční nebo deleční smyčky

IHC - ImmunoHistoChemistry testing; imunohistochemické vyšetření

InSiGHT - International Society for Gastrointestinal and Hereditary Tumours;

Mezinárodní společnost pro gastrointestinální a dědičné nádory

LS - Lynch syndrome; Lynchův syndrom

MAP - MYH Associated Polyposis; MYH asociovaná polypóza

MAP/ERK - MAP/ERK kinase; MAP/ERK kináza

MLPA - Multiplex Ligation- dependent Probe Amplification; semi- kvantitativní metoda založená na stanovení relativního počtu kopií až 60 sekvencí

MMR GENY - Mismatch Repair Genes; mismatch-repair geny

MSI - MicroSatellite Instability; mikrosatelitně nestabilní

MSS - MicroSatellite Stable; mikrosatelitně stabilní

NSAID - NonSteroidal Anti-Inflammatory Drugs; nesteroidní protizánětlivé léky

PCNA - Proliferating Cell Nuclear Antigen; jaderný antigen proliferující buňky

PCR - Polymerase Chain Reaction; polymerázová řetězová reakce

PSA - Prostate-Specific Antigen; prostatický specifický antigen

TAC/IRA - Total Abdominal Colectomy with Ileorectal Anastomosis; úplná kolektomie s ileorektální anastomózou

TIL - Tumor Infiltrating Lymphocytes; tumor infiltrující lymfocyty

VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor; vaskulární endoteliální růstový faktor

VUS - Variants of Uncertain Significance; varianty nejistého původu