

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Hereditární syndromy predisponující k nádorovým onemocněním a jejich
molekulárně genetická diagnostika

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Barbora Punarová**
Osobní číslo: **C17206**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Hereditární syndromy predisponující k nádorovým onemocněním a jejich molekulárně genetická diagnostika**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Vypracujte literární rešerši o vzácných hereditárních syndromech predisponujících k nádorovým onemocněním.
- 2) Charakterizujte sporadická a hereditární nádorová onemocnění, uveďte typy dědičnosti, vysvětlete etiopatogenezi vybraných syndromů a popište jejich fenotypické projevy.
- 3) Rozvedte metodické postupy molekulárně genetické diagnostiky.
- 4) Zohledněte současné a výzkumné možnosti v laboratorní diagnostice případně strategii cílené léčby onemocnění.
- 5) Pro vytvoření kompilačního textu využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod. Jako zdroje využijte zejména odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Markéta Gančarčíková**
Katedra porodní asistence a zdravotně sociální práce
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Lucie Stříbrná, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 ods. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2010, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 17.7. 2020

.....

Barbora Punarová

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala své vedoucí práce Mgr. Markétě Gančarčíkové za shovívavost, trpělivost a přátelský přístup při tvorbě práce a Mgr. Lucii Stříbrné, Ph.D. za cenné rady. Dále bych ráda poděkovala své rodině za podporu v průběhu mého studia.

ANOTACE

Práce se převážně zabývá charakteristikou jednotlivých hereditárních syndromů, s obecným výkladem z onkogenetiky, popisující zejména vznik nádorového onemocnění a z obecné genetiky, zaměřené hlavně na formy dědičnosti. Dále se práce věnuje metodám využívaným k jejich molekulárně genetické diagnostice a léčbě.

KLÍČOVÁ SLOVA

geny, chromozomy, mutace, hereditární syndromy, karcinomy, dědičnost, diagnostika

TITLE

Hereditary cancer predisposition syndromes and their molecular genetic diagnostics

ANNOTATION

The work mainly deals with the characteristics of individual hereditary syndromes with a general interpretation of oncogenetics, describing in particular the origin of cancer and general genetics, focused mainly on forms of heredity. Furthermore, the work deals with the methods used for their molecular genetic diagnosis and therapy.

KEYWORDS

genes, chromosomes, mutations, hereditary syndromes, carcinomas, heredity, diagnostics

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	9
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
TERMINOLOGIE	12
ÚVOD.....	13
1 ONKOGENETIKA	14
2 NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ	16
2.1 Výskyt nádorových onemocnění.....	16
2.1.1 Sporadický výskyt.....	17
2.1.2 Familiární výskyt	18
2.1.3 Hereditární výskyt.....	18
3 HEREDITÁRNÍ SYNDROMY	22
3.1 Familiární adenomatózní polypóza (FAP).....	22
3.2 Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC, Lynchův syndrom)	23
3.3 Hereditární karcinom prsu a ovarií (HBOC).....	23
3.4 Vzácné hereditární syndromy	25
3.4.1 Syndromy chromozomální nestability (SCI)	25
3.4.2 Syndromy predisponující k nádorům endokrinního systému	28
3.4.3 Syndromy predisponující k nádorům kůže	29
3.4.4 Syndromy predisponující k nádorům nervové tkáně	30
3.4.5 Syndromy predisponující k nádorům trávicí soustavy	32
3.4.6 Syndromy predisponující k nádorům oka.....	33
3.4.7 Ostatní syndromy	34
3.5 Prevalence hereditárních syndromů	36
4 MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ DIAGNOSTIKA	37
4.1 Metoda MLPA	37
4.2 Sangerovo sekvenování.....	40

4.3	Sekvenování DNA nové generace	42
4.3.1	Illumina (Solexa)	43
4.3.2	SOLiD	45
4.3.3	Ion Torrent	46
5	LÉČBA	48
6	ZÁVĚR	49
7	POUŽITÁ LITERATURA	50

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 - Vznik dědičného a sporadického nádoru.....	15
Obrázek 2 - Proces karcinogeneze	16
Obrázek 3 - Autozomálně dominantní typ rodokmenu	20
Obrázek 4 - Autozomálně recesivní typ rodokmenu	21
Obrázek 5 - Rodokmen s příbuzenským sňatkem	21
Obrázek 6 - Adenomatózní polypy v tlustém střevě	22
Obrázek 7 - Teleangiektázie v oku	25
Obrázek 8 - Chlapec s faciálním erytémem	26
Obrázek 9 - Ptačí obličej u dítěte a dospělého	28
Obrázek 10 - Pacient postižený mnohočetnými névy	29
Obrázek 11 - Lischovy noduly	31
Obrázek 12 - Skvrny „café-au-lait“	32
Obrázek 13 - Pigmentace rtů u Peutz-Jeghersova syndrom	33
Obrázek 14 - Leukokorie.....	34
Obrázek 15 - Hybridizace sond	38
Obrázek 16 - Hybridizace sond	38
Obrázek 17 - Amplifikace pomocí primerů.....	39
Obrázek 18 - Elektroforeogram metody MLPA s využitím probemixu pro gen BRCA1. Výsledný elektroforeogram u vyšetřované ženy splňující indikační kritéria pro molekulárně genetickou analýzu BRCA1 a BRCA2 genů	39
Obrázek 19 - Vizualizace analyzovaných dat. Ukázka výsledku analýzy metodou MLPA u pacientky s HBOC. Metodou MLPA byla detekována rozsáhlá delece zasahující exon 5 až 14 v BRCA1 genu, g.21716_53298del31583	40
Obrázek 20 - Sangerovo sekvenování	41
Obrázek 21 - Vizualizace analyzovaných dat	42
Obrázek 25 – Princip metody Illumina	44
Obrázek 26 - Princip metody SOLiD	46
Obrázek 27 - Princip metody Ion Torrent	47

Tabulka 1 - Amsterdamská kritéria II	23
Tabulka 2 - Modifikovaná indikační kritéria testování genů BRCA	24
Tabulka 3 - Prevalence hereditárních syndromů	36

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AAA – část kódované DNA (adenin – adenin – adenin)

ATP – adenosintrifosfát

CCD detektor – Charge-coupled device detektor

ddNTP – dideoxynukleotid trifosfát

DNA – deoxyribonukleová kyselina

dNTP – deoxynukleod trifosfát

emPCR – emulzní PCR

FAP – Familiární adenomatózní polypóza

FISH – Fluorescent *In Situ* Hybridization

HBOC – Hereditary Breast and Ovarian Cancer

HNPCC – Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer

PCR – polymerázová řetězová reakce

RNA – ribonukleová kyselina

TERMINOLOGIE

Alela: konkrétní forma genu

Benigní: nezhoubný nádor, nevytváří metastázy

Heterochromie: různobarevnost

Chromozom: buněčná struktura v jádře eukaryotních buněk

Kolonoskopie: endoskopické vyšetření tlustého střeva a konečníku

Makroglosie: neobvykle velký jazyk

Maligní: zhoubný nádor, vytváří metastázy

Mikrocefálie: vývojová vada způsobující malý vzrůst hlavy

Mikroftalmie: abnormální zmenšení oka

Mikrognacie: nepřiměřeně malá spodní čelist

Mutace: kvalitativní nebo kvantitativní změna v molekule DNA

Nukleotid: základní stavební jednotka nukleových kyselin

Screening: metoda vyhledávání časných stádií onemocnění nebo patologických stavů v době, kdy jedinec nemá žádné příznaky vyhledávaného onemocnění

ÚVOD

Bakalářská práce se zaměřuje na souhrn poznatků o dědičných syndromech predisponujících k nádorovým onemocněním. Během posledních 20 let bylo dosaženo významných pokroků v oblasti identifikace genetické příčiny, hereditární predispozice, která vede ke vzniku nádorového onemocnění. Do současné doby bylo popsáno více než 200 dědičných nádorových syndromů.

Úvodní stránky předkládané práce se zabývají obecnou onkogenetikou se zaměřením na vyobrazení nádorového onemocnění a charakterizace genů, které mají hlavní vliv na vývoj dané nemoci. Zmíněna je Knudsova teorie dvojího zásahu, hlavní podstata při vzniku dědičného nádoru. Další oddíl prezentuje přímo nádorová onemocnění, počínaje karcinogenezí a jejich přítomností zejména v České republice. Následuje rozdělení podle výskytu v populaci, na sporadický, familiární a hereditární výskyt. Vysvětleny jsou typy dědičnosti, na kterých jsou založeny nádorové syndromy.

Převážná část práce popisuje u jednotlivých syndromů etiopatogenezi, genotypické projevy a riziko projevu dalších nádorových komplikací. Ve své práci jsem se zaměřila na popis tří nejčastějších dědičných nádorových onemocnění, jakým jsou familiární adenomatózní polypóza, hereditární nepolypózní kolorektální karcinom a hereditární karcinom prsu a ovarií. Dále jsem se věnovala popisu vzácných hereditárních syndromů, které jsou uspořádané dle typu orgánu, který postihují.

Závěr práce je věnován charakteristice a výčtu metod využívaných k mutační analýze kauzálních genů způsobujících dědičná nádorová onemocnění, a to od moderních technik po starší, avšak stále využívané v diagnostice nádorových syndromů. Poté je uveden postup při molekulárně genetickém vyšetření a v neposlední řadě možnosti léčby nádorových syndromů včetně zakomponování současného moderního trendu.

1 ONKOGENETIKA

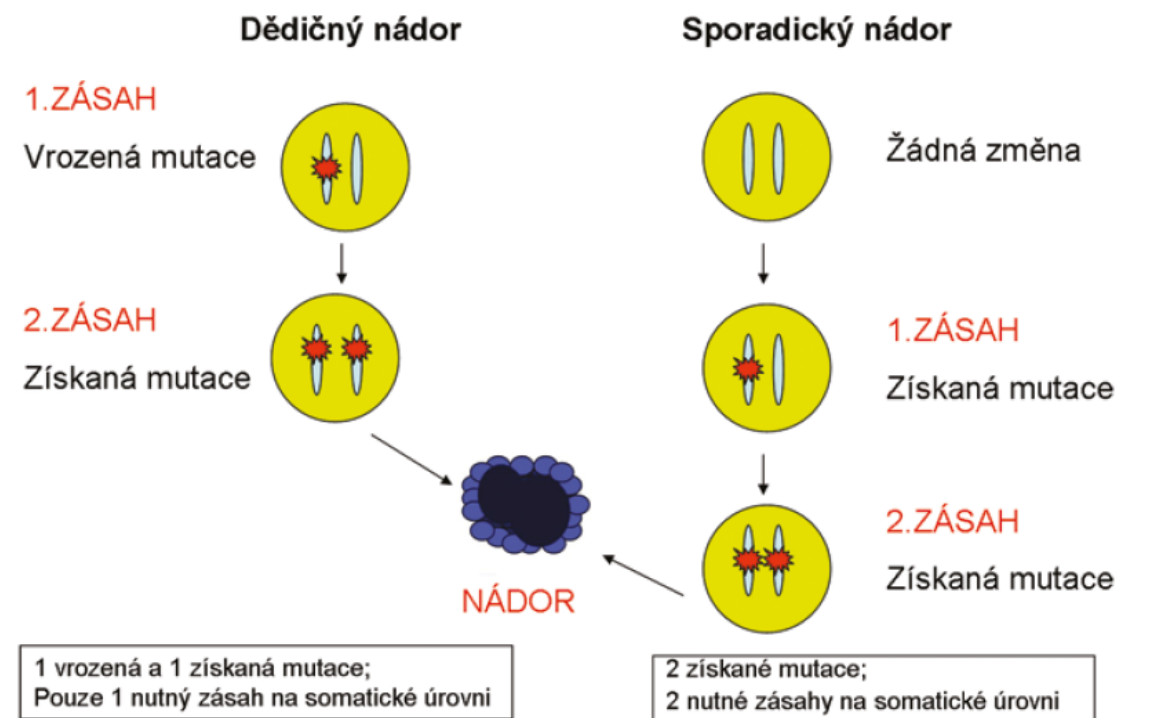
Onkogenetika je obor zabývající se vznikem nádorových onemocnění, které mají genetický původ. Nádorová onemocnění lze charakterizovat jako nekontrolovatelné dělení buněk, spojené s defektem v průběhu růstu buněk. Nádor tvoří abnormální tkáň, která nemá žádnou fyziologickou funkci, ačkoliv vzniká z naší vlastní tkáně. Na opravě poškození v procesu buněčného dělení dochází k aktivaci kontrolních mechanismů, jako je například apoptóza, kdy buňka spáchá „sebevraždu“. Na apoptóze se podílejí zejména geny *TP53*, *BCL-2* a *BAX*, avšak při mutaci těchto genů je apoptóza porušena, což podporuje vznik nádorů. Maligní transformace, tedy přeměna buňky na buňku nádorovou, probíhá v důsledku mutací specifických genů, mezi které patří protoonkogeny a tumor supresorové geny (Hofmanová, 2013).

Protoonkogeny stimulují buněčný růst, patří mezi ně například geny *RET*, *SRC*, *JUN* nebo *FOS*. Kódují zejména růstové faktory, receptory pro růstové faktory, transdukční mechanismy a transkripční faktory. Jestliže dojde k jejich mutaci, mění se na karcinogenní onkogeny, kterým k zahájení maligní transformace stačí mutace v jedné alele daného genu (dominantní onkogeny). K transformaci protoonkogenů může dojít buď při změně transkripce a exprese nebo po přeměně sekvenci nukleotidů. Mutace protoonkogenů, ke kterým většinou dochází, jsou (Hofmanová, 2013):

- Bodové mutace – mutace způsobená záměnou nukleotidu v DNA
- Chromozomální přestavby – dochází k narušení nebo přemístění sekvence genu
- Genová amplifikace – způsobeno znásobením sekvence genu v genomu buňky

Tumor supresorové geny inhibují buněčný růst, mezi nejznámější patří geny *TP53* a *RBI*. Na rozdíl od onkogenů musí dojít k mutaci v obou alelách (recesivní onkogeny nebo také antionkogeny). Avšak jedinec může zdědit jednu mutovanou alelu a poté stačí už jenom jedna mutace, aby došlo ke vzniku nádoru. Tento průběh můžeme označit jako Knudsonovu teorie dvojího zásahu, což je tedy proces, kdy dochází ke vzniku hereditárních nádorových onemocnění (Payne, 2005).

Tuto teorii objevil doktor Alfred G. Knudson v roce 1971, který pozoroval dětské pacienty s retinoblastomem a formuloval u tohoto nádorového onemocnění nutnost tzv. dvojího zásahu (Knudson, 1971). U sporadického syndromu je zapotřebí dvou somatických mutací, aby došlo ke vzniku onemocnění. Naopak u hereditární formy je jedna mutace již zděděná, a tudíž stačí pouze jedna mutace na somatické úrovni. Postižený jedinec je tedy od narození heterozygot, u něhož se onemocnění neprojevuje, ale pokud dojde k mutaci nebo ke ztrátě druhé alely dochází k tzv. ztrátě heterozygosity (Knudson, 2001).

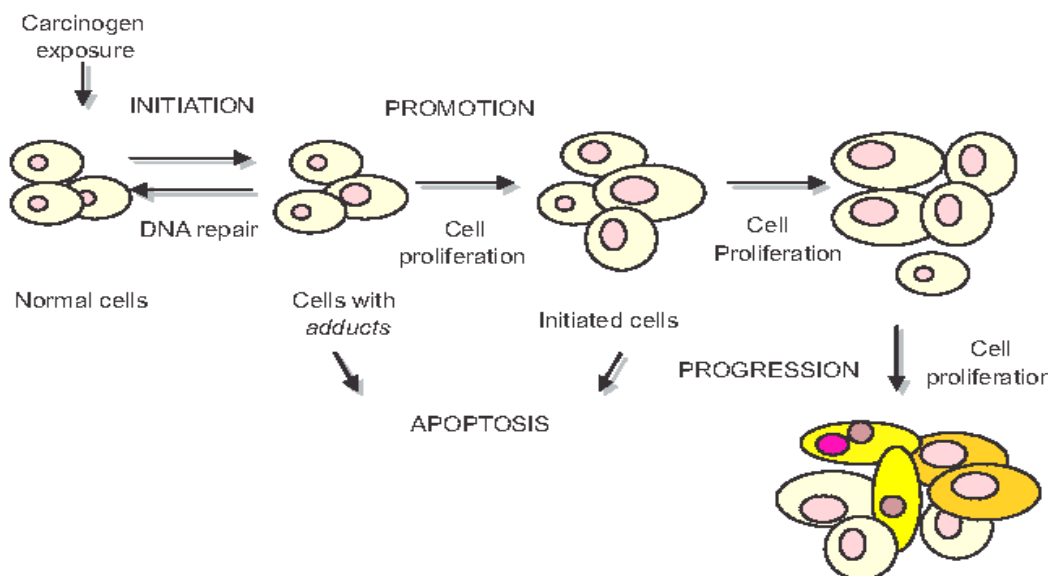


Obrázek 1 – Vznik dědičného a sporadického nádoru (převzato a upraveno od Bajčiová, 2007)

2 NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ

Vznik a vývoj nádorového onemocnění se označuje jako karcinogeneze nebo také kancerogeneze. Jedná se o vícestupňový proces, a proto období od počátečního působení karcinogenu do vytvoření populace neoplastických buněk lze rozdělit do postupných fází: iniciace, promoce a progrese (Hofmanová, 2013):

- Fáze iniciace – dochází k mutaci, inaktivace tumor supresorových genů a aktivace protoonkogenů, buňka se stává preneoplastickou, jedná se o nevratný děj;
- Fáze promoce – promotory podporují buněčné dělení, vzniká benigní nádor;
- Fáze progrese – pokračuje nekontrolovatelné dělení buněk a následná tvorba maligního nádoru.



Obrázek 2 – Proces karcinogeneze (převzato a upraveno od Oliveira, 2007)

2.1 Výskyt nádorových onemocnění

Nádorovým onemocněním je postiženo celkově přes půl milionů osob v České republice a z tohoto důvodu jsou tato onemocnění druhou nejčastější příčinou úmrtí, kdy ročně zemře přibližně 27 tisíc osob. Dlouhou dobu se Česko objevovalo na předních příčkách v počtu nádorů jak v Evropě, tak i celosvětově, zejména na prvním místě ve výskytu nádoru tlustého střeva a konečníku. Na podzim roku 2018 jsme ve světě klesli na 23. místo ve výskytu karcinomu kolorekta (CRC) a v úmrtnosti na 22. místo, což je zapříčiněno

preventivním screeningovým programem a větším počtem vyšetření, a to hlavně kolonoskopií. Mezi nejčastější rakovinu v ČR patří nádory kůže, prostaty, kolorekta, prsu, plic a ledvin (GCO, 2019). Nádorová onemocnění lze rozdělit podle jejich přítomnosti v rodině, kdy se nádory mohou objevovat ojediněle, pak se jedná o sporadický výskyt. Nebo se určité typy nádorů vyskytují v rodině velmi často či po několik generacích, potom jde o hereditární výskyt.

2.1.1 Sporadický výskyt

U sporadického výskytu vzniká mutace na somatické úrovni, tudíž se onemocnění neváže na dědičné predispozice a není prokázáno u ostatních členů rodiny. Sporadické nádory tvoří více než 70 % případů a objevují se především ve vyšším věku (Navrátilová, 2013). Na nádorové onemocnění mají vliv hlavně faktory vnějšího prostředí. Látky, které vyvolávají nebo zvyšují riziko vzniku rakoviny, se nazývají karcinogeny (také kancerogeny). Podle charakteru je můžeme rozdělit na chemické (např. polycyklické aromatické uhlovodíky, alkylační látky), fyzikální (např. radiace, ionizující záření, UV záření) a biologické (např. onkogenní viry – papilomavirus, virus infekční žloutenky B a C, retroviry) (Nečas, 2000). Chemické karcinogeny rozdělujeme dle mechanismu účinku.

1. Genotoxické karcinogeny

Reagují přímo s genetickým materiálem somatických buněk a zahajují maligní transformaci ve stadiu iniciace. Genotoxické působení je nevratné a k vyvolání změn v buňkách stačí pouze jediná expozice, a proto tyto karcinogeny označujeme jako primárně bezprahové (Cikrt, 1995). Dalším znakem je elektrofilní charakter, díky kterému mohou tvořit kovalentní vazby s nukleofilními úseky buněčných biopolymerů (Miller, 1976). Dále genotoxické karcinogeny dělíme (Cikrt, 1995):

- Přímé (ultimativní) karcinogeny – mají schopnost se přímo vázat na nukleofilní oblast DNA, kdy vznikají modifikované úseky DNA, tzv. DNA adukty, které mohou zapříčinit počátek mutace. Patří mezi ně alkylační činidla.
- Nepřímé (proximativní) karcinogeny – nemají schopnost se přímo vázat na DNA, ale po jejich biotransformaci dochází ke vzniku elektrofilních metabolitů, které už mají genotoxický efekt. Mezi nepřímé karcinogeny můžeme zařadit aflatoxiny, nitrosaminy, polycyklické aromatické uhlovodíky, aj.).

2. Epigenetické karcinogeny

Jde o prahové látky, které nevykazují mutagenní aktivitu, tudíž nereagují přímo s genetickým materiálem buňky a podílejí se na karcinogenezi jinými účinky, které jsou reverzibilní. Působí ve fázi promoce, kde podporují proliferaci. Dělí se na látky podle mechanismu působení (Cikrt, Málek, 1995):

- Látky, které narušují hormonální rovnováhu (estrogeny)
- Látky s imunosupresivními účinky (purinové deriváty)
- Látky s cytotoxickými účinky (léčiva)
- Látky s promoční aktivitou (polychlorované bifenyly)

2.1.2 Familiární výskyt

Při familiárním výskytu, který tvoří asi 15-25 % případů, se často objevují nádorová onemocnění v jednotlivých rodinách. Onemocnění postihuje 2 a více příbuzných v 1. a 2. generaci, ale tyto nádory se nepovažují za dědičné. Karcinomy mohou být způsobené stejným životním stylem, který jedince ovlivňuje už od narození. Mezi nejčastější činitele patří kouření a stravování, proto se v rodině mohou vyskytovat určité typy nádorů, jako například nádory trávicí soustavy (Navrátilová, 2013). Od dědičné formy se liší projevem ve vyšším věku a polygenní dědičností, kdy spolu působí více genů s menším účinkem, tzv. minorgeny, které společně tvoří celkový fenotyp. Jedná se hlavně o znaky kvantitativní, jako je výška, hmotnost, hodnota IQ, stupeň pigmentace nebo hodnota krevního tlaku. Projevy znaku vystihuje Gaussova křivka. Polygenní dědičnost bývá také často označována jako multifaktoriální. Avšak u multifaktoriální dědičnosti se navíc prosazují i vlivy vnějšího prostředí (Kočárek, 2008).

2.1.3 Hereditární výskyt

Hereditární nádorová onemocnění jsou podmíněná dědičností a tvoří asi 5-10 % případů. V rodině se objevuje určitý typ nádoru u více příbuzných a v jakékoliv generaci. Diagnóza se projeví už od narození nebo v nízkém věku (Navrátilová, 2013). Dědičnost je monogenní, je tedy způsobena jen jedním genem tzv. majorgen a vliv vnějšího prostředí je minimální. Mezi projevy patří kvalitativní znaky, jako je talent, barva očí nebo vlasů. Penetrance je neúplná, ale velmi vysoká (Kočárek, 2008). Dědičnost je řízena Mendelovými zákony (Pierce, 2017, Watson, 2013):

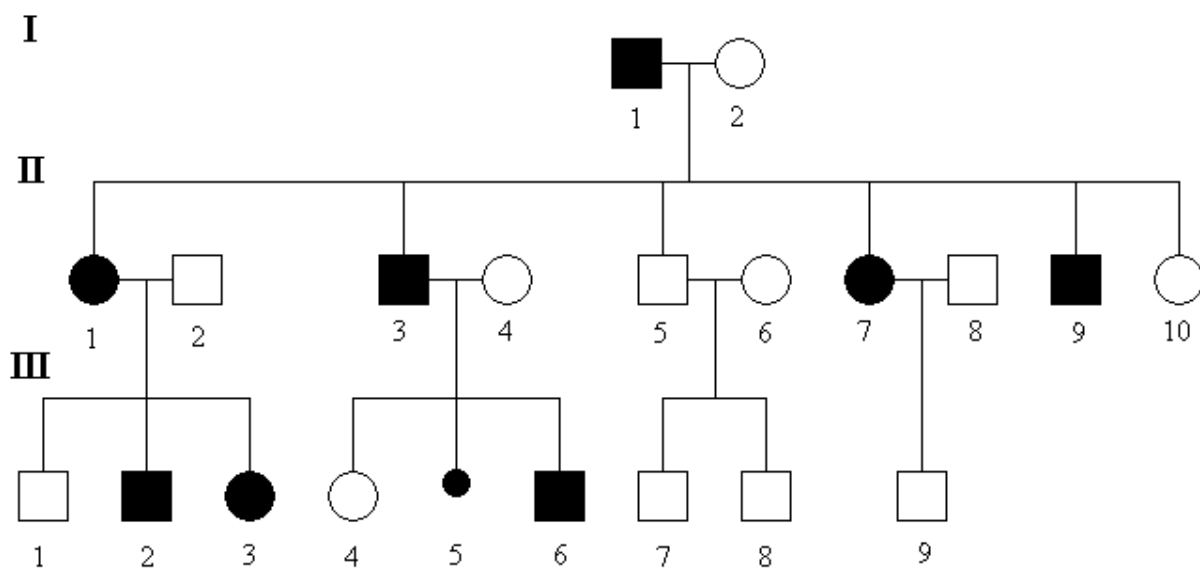
- 1. Zákon o uniformitě F1 generace – při křížení dominantního homozygota s recesivním homozygotem, vzniknou vždy genotypově i fenotypově stejní heterozygotní potomci.

- 2. Zákon o nestejnorodosti F2 generace – při křížení dvou heterozygotů vznikají potomci, jejichž genotypový štěpný poměr je 1:2:1 a fenotypový poměr je 3:1 (monohybridismus s úplnou dominancí).
- 3. Zákon o kombinovatelnosti alel – při křížení dvou polyhybridů se alely volně kombinují do gamet a vzniká nejednotné potomstvo, jejichž genotypový štěpný poměr je 1:2:1:2:4:2:1:2:1 a fenotypový poměr je 9:3:3:1, geny leží na 2 různých chromozomech.

Monogenní dědičnost dělíme podle toho, jestli jedna z alel převládá, je dominantní a potlačuje projev druhé alely, tedy recesivní. Dalším aspektem je, zda se onemocnění váže na autozomy (chromozom 1 až 22) nebo gonozomy neboli pohlavní chromozomy (X a Y).

2.1.3.1 Autozomálně dominantní dědičnost (AD)

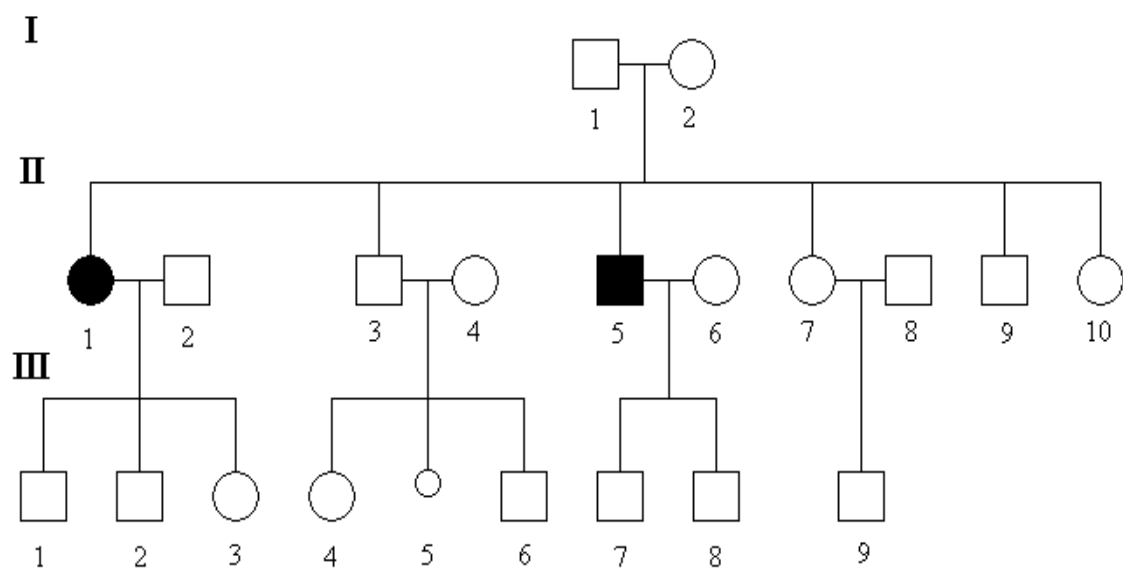
Mutovaný gen je umístěn na autozomu a kvůli dominantní alele se onemocnění projeví v každé generaci, bez rozdílu pohlaví. Postižený jedinec má vždy alespoň jednoho postiženého rodiče, výjimkou může být mutace *de novo*. Pro další jeho potomky a sourozence je 50 % riziko, že fenotyp také zdědí. Zdraví potomci následně mutaci v rodině dále nepřenášejí. Poměr zdravých a postižených potomků je 1:1. Jedná se o vertikální přenos. Mohou se objevit faktory, které znesnadní určení diagnózy a sestavení rodokmenu, mezi ně patří neúplná penetrance, kdy se znak nemusí zcela projevit nebo je těžce pozorovatelný. Pokud dojde k variabilní expresivitě, dochází u nemocných k různým projevům fenotypu. Při pleiotropii jeden gen ovlivňuje více fenotypových znaků (Kočárek, 2008).



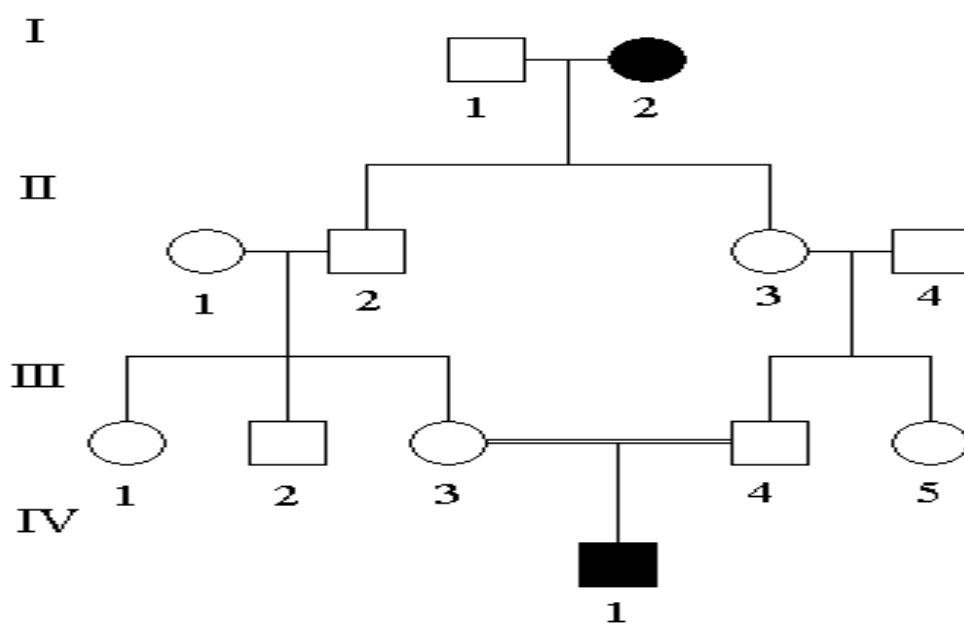
Obrázek 3 – Autozomálně dominantní typ rodokmenu (převzato od Šípek, 2004)

2.1.3.2 Autozomálně recesivní dědičnost (AR)

Na autozomu je lokalizována recesivní alela, a proto se onemocnění neobjevuje v každé generaci, tudíž přenos je horizontální. Postižený, bez rozdílu pohlaví, je homozygot a onemocnění se u něho projeví, ale jeho rodiče jsou heterozygotní přenašeči, u kterých nepozorujeme žádné příznaky onemocnění. Pro sourozence probanda platí 50 % riziko, že budou asymptomatictí přenašeči, 25 % riziko, že se onemocnění projeví a 25 % možnost zdravého genotypu (Kočárek, 2008). Vyšší pravděpodobnost AR onemocnění pozorujeme u jedinců narozených rodičům, kteří jsou pokrevně příbuzní, tedy konsanguinní, jelikož mohou oba zdědit mutovanou alelu od společného předka. U těchto potomků lze stanovit míru konsanguinity, což značí, že riziko pro dítě být homozygotem je úměrné tomu, jak jsou jeho rodiče příbuzní. Další ukazatel je koeficient inbreedingu (F), ten stanovuje pravděpodobnost, že potomek získal obě alely v lokusu od svého předka (Morton, 1956).



Obrázek 4 - Autozomálně recesivní typ rodokmenu (převzato z od Šípek, 2014)



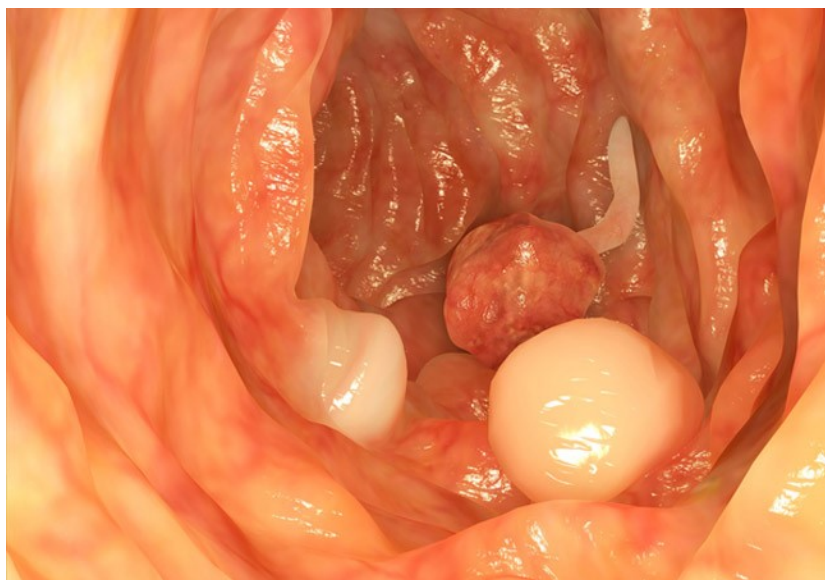
Obrázek 5 - Rodokmen s příbuzenským sňatkem (převzato od Šípek, 2004)

3 HEREDITÁRNÍ SYNDROMY

Mezi nejčastěji diagnostikované hereditární syndromy predisponující k nádorovým onemocněním v dospělém věku patří familiární adenomatózní polypóza, hereditární nepolypózní kolorektální karcinom a hereditární karcinom prsu a ovarií (Rahner, 2008).

3.1 Familiární adenomatózní polypóza (FAP)

FAP je autozomálně dominantní nádorové onemocnění, u kterého je nalézána kauzální varianta (mutace) v genu *APC* (5q21-q22) nebo genu *MUTYH* (1p.34.1). Typickým projevem tohoto onemocnění je vznik mnohočetných adenomatózních polypů v tlustém střevě, kdy se polypy mohou objevit již okolo 15. roku života. Do věku 50 let je 100 % malignizace. Dalšími klinickými nálezy je výskyt hepatoblastomu, hypertrofie pigmentového epitelu sítnice, osteomy čelisti, karcinom štítné žlázy, karcinom žaludku, karcinom pankreatu (Plevová, 2009). Gen *MUTYH* kóduje enzym glykosilázu, který se podílí na reparaci chybného párování bází. Bialelickou zárodečnou mutací tohoto genu, dochází k autozomálně recesivnímu onemocnění MAP (*MUTYH*-associated polyposis), doprovázené tvorbou střevních polypů (Tricarico, 2011).



Obrázek 6 - Adenomatózní polypy v tlustém střevě (převzato od Burke, 2019)

3.2 Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC, Lynchův syndrom)

Lynchův syndrom je nejčastější predispozicí při familiárním výskytu nepolypózního kolorektálního karcinomu (CRC), kdy tímto způsobem vzniká 2-5 % CRC. Dále může HNPCC způsobit výskyt dalších maligních nádorů jako např.: karcinom endometria, žaludku, tenkého střeva a ovarií. Jedná se o autozomálně dominantní onemocnění, způsobené zárodečnými mutacemi MMR genů, které opravují chybné párování bází při replikaci DNA. Jedná se zejména o geny *MLH1*, *MSH2*, *PMS1*, *PMS2* a *MSH6* (Kacerovská, 2010). Pro diagnostiku HNPCC se využívají tzv. Amsterdamská kritéria II jako indikační kritéria k vyšetření genů *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* (Vasen, 1991 a 1999), (viz. Tabulka 1), či revidovaná kritéria z Bethesdy pro testování nestability mikrosatelitů nebo imunohistochemické vyšetření exprese proteinů *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, event. *PMS2* v nádorech (Umar, 2004).

Tabulka 1 - Amsterdamská kritéria II (převzato a upraveno od Vassen, 1999)

Amsterdamská kritéria II
<ul style="list-style-type: none">• Alespoň tři členové rodiny mají karcinom, který bývá součástí Lynchova syndromu (CRC, karcinom endometria, tenkého střeva, močových cest).
<ul style="list-style-type: none">• Alespoň jeden z pacientů je příbuzný prvního stupně ostatních dvou.
<ul style="list-style-type: none">• Postižení jedinců v rodině v nejméně dvou po sobě následujících generacích.
<ul style="list-style-type: none">• Nádorové onemocnění u alespoň jednoho z postižených jedinců v rodině bylo diagnostikováno ve věku pod 50 let.
<ul style="list-style-type: none">• Byla vyloučena familiární adenomatózní polypóza.
<ul style="list-style-type: none">• Diagnóza karcinomu byla verifikována histopatologickým vyšetřením.

3.3 Hereditární karcinom prsu a ovarií (HBOC)

Karcinom prsu je nejčastější nádorové onemocnění u žen v ČR, kdy hereditární příčina je odhadována u 5-10 % případů. Autozomálně dominantní onemocnění je nejčastěji způsobeno zárodečnými mutacemi genů *BRCA1* (17q21) a *BRCA2* (13q12.3) (Kleibl, 2016). Pro karcinom prsu je celoživotní riziko nosiček s mutací v genu *BRCA1* 40-87 % a u nosiček s mutací v genu *BRCA2* 18-88 %. Riziko vzniku karcinomu vaječníků je u nosiček s mutací v genu *BRCA1* 22-65 % a u nosiček s mutací v genu *BRCA2* 10-35 %. Muži mají riziko u mutace v genu *BRCA1* 1,2 % a u mutace v genu *BRCA2* 8 % (Mavaddat, 2013). Při výskytu

mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* je možný vznik i dalších nádorových onemocnění, jako je například karcinom prostaty, pankreatu nebo kolorektální karcinom. Dalšími geny, které jsou zodpovědné za HBOC jsou geny *CHEK2* (22q12.1), kódující serin/treoninovou proteinkinázu CHK2 a *PALB2* (16p12.2), kódující protein PALB2. Všechny produkty těchto genů se podílejí na reparaci dvouřetězcové DNA (Kleiblová, 2019). Při indikaci k molekulárně genetické mutační analýze hlavních predispozičních genů *BRCA1,2* se využívají doporučená indikační kritéria (viz. Tabulka 2).

Tabulka 2 - Modifikovaná indikační kritéria pro testování genů *BRCA* (dle: NCCN, National Comprehensive Cancer Guidelines, 2015, schválené Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP)

Sporadické formy	<ul style="list-style-type: none"> • Epitelový karcinom ovaria, tuby, či primární peritoneální karcinom v jakémkoliv věku
	<ul style="list-style-type: none"> • Triple-negativní karcinom prsu (TNBC, receptory ER-, PR-, HER2-negativní) do 60 let, medulární karcinom prsu se téměř vždy shoduje s triple negativním karcinomem prsu
	<ul style="list-style-type: none"> • Unilaterální karcinom prsu do 45 let (do 50 let, pokud není vůbec známá rodinná anamnéza)
	<ul style="list-style-type: none"> • Dva samostatné primární karcinomy prsu, první do 50 let nebo oba do 60 let
	<ul style="list-style-type: none"> • Duplicita karcinomu prsu a pankreatu v jakémkoliv věku
	<ul style="list-style-type: none"> • Karcinom prsu u muže v jakémkoliv věku
Familiární formy	Karcinom ovaria, tuby nebo primární peritoneální karcinom v rodinné anamnéze je vždy indikací k testování
	3 příbuzní:
	<ul style="list-style-type: none"> • Alespoň tři přímí příbuzní (včetně probandky) s karcinomem prsu v jakémkoliv věku
	2 příbuzní:
<ul style="list-style-type: none"> • 2 přímé příbuzné (včetně probandky) s karcinomem prsu, alespoň jedna diagnostikována ve věku <50 let, nebo obě do 60 let 	
<ul style="list-style-type: none"> • Probandka s karcinomem prsu do 50 let s přímým příbuzným s nádorovým onemocněním spojeným s HBOC (např. karcinom pankreatu, prostaty) 	

	Prediktivní testování:
	<ul style="list-style-type: none">• Znamé familiární mutace u příbuzných od 18 let

3.4 Vzácné hereditární syndromy

3.4.1 Syndromy chromozomální nestability (SCI)

3.4.1.1 Ataxia teleangiectasia (A-T)

Neboli syndrom Louis-Barové je autozomálně recesivní onemocnění, které je heterogenní, jelikož zahrnuje čtyři komplementační skupiny A, C, D, E (Lindor, 1998). K mutaci dochází v genu *ATM* (11q22.3), který kóduje protein ATM-kinázu, tento protein koordinuje signální dráhy v reparaci dvou řetězcových zlomů v DNA. První genotypické příznaky se projevují již v raném dětství, kdy dochází k cerebelární ataxii, kterou doprovázejí problémy s chůzí, řečí, hybnosti očí a ke zvýšení hodnoty alfa-fetoproteinu. Dalším projevem jsou teleangiektázie, což je rozšíření malých cév, zejména v oku a na kůži. Objevuje se i imunodeficit, při kterém jsou sníženy hodnoty imunoglobulinů IgG, IgA a IgE. Pacienti jsou velmi citliví na ionizující záření. Je zde zvýšené riziko nádorových onemocnění, přičemž mezi nejčastější patří leukémie, lymfoidní nádory, karcinom žaludku a karcinom prsu (Rothblum-Oviatt, 2016).



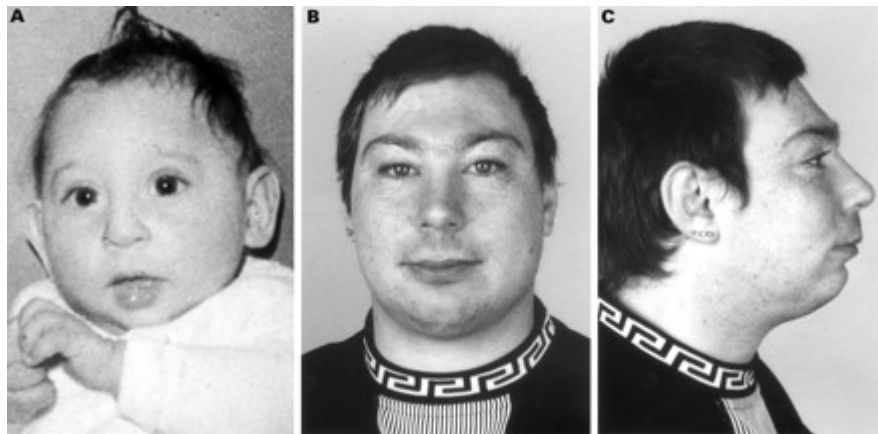
Obrázek 7 - Teleangiektázie v oku (převzato od Schieving, 2017)

3.4.1.2 Bloomův syndrom (BS)

Jedná se autozomálně recesivní onemocnění, kdy dochází k mutaci v genu *BLM* (15q26.1), tento gen kóduje DNA helikázu. U pacientů dochází k prenatálnímu i postnatálnímu růstovému deficitu a k mentální retardaci, projevuje se mikrocefalií s úzkým a protáhlým obličejem. Teleangiektázie se objevuje převážně na obličeji, připomínající tvar motýlích křídel (motýlovitý erytém). Na těle se nalézají tmavě hnědé nebo bílé skvrny, které jsou označovány jako skvrny „bílé kávy“ (Café-au-lait). Velmi často je u pacientů s BS popisována hypersenzitivita ke slunečnímu záření, která se projevuje především jako faciální erytém. Pacienti mají vyšší riziko k infekcím dýchacích cest, k bronchiektázií, k diabetu mellitu, k průjmu a zvracení. U mužů bývá pozorována azoospermie, která je příčinou neplodnosti. Dále dochází k častému výskytu nádorových onemocnění, jako např.: leukémie, lymfomy, karcinom gastrointestinálního traktu (GIT), karcinom prsu a děložního čípku. Bloomův syndrom má vyšší frekvenci výskytu především v populaci Aškenázských Židů (Lindor, 1998).



Obrázek 8 - Chlapec s faciálním erytémem
(převzato z: Cunnif, 2017)



Obrázek 9 - Ptačí obličej u dítěte a dospělého (převzato od THE INTERNATIONAL NIJMEGEN BREAKAGE SYNDROME STUDY GROUP, 2000)

3.4.2 Syndromy predisponující k nádorům endokrinního systému

3.4.2.1 Mnohočetná endokrinní neoplázie typu 1 (MEN1)

MEN1 je autozomálně dominantní onemocnění, způsobené zárodečnou mutací v genu *MEN1* (11q13). Tento gen kóduje protein menin, jeho funkce je zatím ne zcela objasněna, ale pravděpodobně se podílí na proliferaci DNA. Když tedy dojde k poklesu produkce meninu, začnou se buňky rychle a nekontrolovatelně dělit, což umožní vznik nádorů hypofýzy, příštítných tělísek, pankreatu a nadledvin. Hlavním příznakem je hyperparathyreóza, která se vyskytuje u 95 % případů se syndromem MEN1. Dochází ke zvýšené sekreci gastrinu, to vede ke vzniku duodenálního vředu, což je příčina Zollinger-Ellisonova syndromu (Kamilaris, 2019).

3.4.2.2 Mnohočetná endokrinní neoplázie typu 2A (MEN2A)

Při onemocnění MEN2A se projeví mutace v protoonkogenu *RET* (10q11.2), přičemž mutace se nachází v exonech 10 a 11. Gen *RET* kóduje protein, zapojený v signálních intrabuněčných drahách. Mutace způsobí proliferaci buněk, při které dochází ke vzniku tumorů (Wells, 2013.) Charakteristické příznaky jsou medulární karcinom štítné žlázy, hyperparathyreóza a feochromocytom, který postihuje nadledviny a vyskytuje se u 40 % pacientů (Lindor, 1998).

3.4.2.3 Mnohočetná endokrinní neoplázie typu 2B (MEN2B)

U MEN2B dochází k mutaci v genu *RET* (10q11.2), avšak v kodonu 918 v exonu 16. Kromě medulárního karcinomu štítné žlázy a feochromocytomu, se od MEN2A liší výskytem slizničních neurinomů, které postihují oči, rty a jazyk. Pro pacienty je častý marfanoidní vzhled, typické je štíhlé tělo s dlouhými končetinami (Smith, 1999).

3.4.3 Syndromy predisponující k nádorům kůže

3.4.3.1 Familiární melanom

Jedná se o autozomálně dominantní onemocnění, při kterém je mutován gen *CDKN2A* (9p21.3), který kóduje proteiny p16(INK4a) a p14(ARF) nebo gen *CDK4* (12q14.1) (Rossi, 2019). Fenotypicky se mohou objevovat dysplastické névy, v počtu 10-100 na horní části trupu a končetinách. Pro indikaci k molekulárně genetickému vyšetření genu *CDKN2A* je podmínka výskytu maligního melanomu u dvou příbuzných prvního a druhého stupně (Děbniak, 2004)



Obrázek 10 - Pacient postižený mnohočetnými névy (převzato od Scharf, 2010)

3.4.3.2 Xeroderma pigmentosum (XP)

XP patří mezi heterogenní onemocnění s autozomálně recesivní dědičností manifestujícím se již v dětském věku. Onemocnění je způsobeno zárodečnými mutacemi v genech ze skupiny *XP-A* (9p22.3), *XP-B* (2q21), *XP-C* (3p25), *XP-D* (19q13.2), *XP-E* (11p12-p11), *XP-F* (16p13.3-p13.13) a *XP-G* (13q33), tyto geny se podílejí na reparaci poškozené DNA způsobené vlivem UV záření. Nemocného postihuje výrazná fotosenzitivita, která se projevuje tvorbou puchýřů, pih, teleangiektázií a hyperpigmentovaných skvrn. U 20 % případů dochází k neurologickým problémům (Lehmann, 2011). Je zde vyšší riziko vzniku karcinomu kůže a oka, přičemž první nádory kůže se objevují již u dětí do věku 10 let (Black, 2016).

3.4.4 Syndromy predisponující k nádorům nervové tkáně

3.4.4.1 Neurofibromatóza typu 1 (NF1)

Autozomálně dominantní onemocnění NF1 neboli Recklinghausenova nemoc, je způsobena mutací v genu *NF1* (17q11.2). Gen *NF1* kóduje protein neurofibromin, který je obsažen zejména v nervových buňkách, jako například v oligodendrocytech a Schwannových buňkách. Syndrom se manifestuje v raném dětství především kožními skvrnami tzv. „café-au-lait“ skvrny, které se do 5 let vyskytují v 90 % případů. Neurofibromy mohou být kutánní, subkutánní nebo plexiformní, kdekoliv na těle. Dalším příznakem je pigmentace v axilách a tříselech, makrocefalie, mentální retardace, porucha učení, skolióza, svalové křeče a vysoký krevní tlak (Boyd, 2009). Typické jsou tzv. Lischovy noduly (iris hamartoma), které způsobují barevné uzlíky na duhovce a jsou přítomny u 100 % pacientů ve věku 60 let. Je zde vyšší riziko vzniku gliomu optického nervu, leukémie, neurofibrosarkomu, rhabdomyosarkomu, astrocytomu a dalších nádorů (Lindor, 1998).



Obrázek 11 - Lischovy noduly (převzato a upraveno od Cruciani, 2016)

3.4.4.2 Neurofibromatóza typu 2 (NF2)

Bilaterální akustická neurofibromatóza, což je jiné označení pro autozomálně dominantní onemocnění neurofibromatózu typu 2, které je způsobeno mutací v genu *NF2* (22q12.2). Gen kóduje protein merlin, ten obklopuje a chrání nervové buňky, při mutaci se tvoří nefunkční protein. Rychlým množením buněk vznikají tumory, které se označují jako vestibulární schwannomy nebo akustické neurinomy (Asthagiri, 2009). První příznaky se začínají objevovat v období dospívání nebo ve věku okolo 20 let. Neurinomy postihují přenos informací z vnitřního ucha do mozku, kdy u pacientů dochází ke ztrátě sluchu, k tinnitu a problémům s rovnováhou. Dalším symptomem je svalová slabost, katarakta a typické skvrny café-au-lait, které bývají v počtu menším než 6 a vznik jiných nádorů nervové soustavy, jakou jsou neurofibromy, gliomy, meningeomy a nádory míchy (Evans, 2009).



Obrázek 12 - Skvrny „café-au-lait“ (převzato a upraveno od Gerber, 2009)

3.4.5 Syndromy predisponující k nádorům trávicí soustavy

3.4.5.1 Familiární karcinom žaludku (HDGC)

HDGC je autozomálně dominantní onemocnění, které vzniká mutací v genu *CDH1* (16q22.1) kódující epiteliální protein E-kadherin, který má schopnost adheze v mezibuněčných spojích. Jedná se o difúzní karcinom, tedy tvořený z málo diferencovaných buněk, které procházejí žaludeční stěnou a z tohoto důvodu je velmi složité určit přesný rozsah tumoru (Onitilo, 2013). Mezi hlavní symptomy patří bolesti žaludku, zvracení, nevolnost, dysfagie, ztráta chuti a hmotnosti. Objevuje se u pacientů mezi 30 až 40 lety a je zde vyšší riziko vzniku karcinomu prsu, prostaty a tlustého střeva (Lindor, 1998).

3.4.5.2 Peutz-Jeghersův syndrom (PJS)

Onemocnění s autozomálně dominantní dědičností je způsobené mutací v genu *STK11* (19p13.3), kódující serin threonin kinázu, která ovlivňuje růst a dělení buněk. Při poškození genu se buňky nezvladatelně dělí a začnou se tvořit hamartomatósní polypy v žaludku, tenkém i tlustém střevě. Typická je pigmentace na rtech a sliznici ústní dutiny, která se

projeví u 90 % pacientů. Skvrny se ještě mohou objevit okolo očí a nosu, na dlaních a nohou. K pigmentaci dochází již v dětství a později ve vyšším věku bledne. Dalším příznakem je krev ve stolici, střevní neprůchodnost a bolesti v oblasti břicha. Nemocní mají riziko vzniku nádorů trávicího ústrojí, slinivky břišní, varlat, děložního čípku, ovarií a prsu (Kopáčová, 2009).



Obrázek 13 - Pigmentace rtů u Peutz-Jeghersova syndromu
(převzato od Gondak, 2012)

3.4.6 Syndromy predisponující k nádorům oka

3.4.6.1 Retinoblastom (RB)

Retinoblastom je typický nádor dětského věku, který vzniká mutací v genu *RBI* (13q14.1-q14.2) manifestuje se nitroočním nádorem. V České republice se každoročně diagnostikuje přibližně 6-7 dětí s tímto závažným onemocněním (Švojgr, 2016). Onemocnění se vyskytuje ve dvou formách. V 60 % případů se jedná o unilaterální, sporadickou formu, kdy se nádor objeví pouze v jednom oku a většinou postihuje děti mezi 1. a 3. rokem. Hereditární, bilaterální forma s autozomálně dominantní dědičností, se projeví více ložisky nádoru u dětí do 12 měsíců. V 15 % případů zasáhne jedno oko a v 25 % případů jsou zasaženy obě oči (Maccarthy, 2006). Charakteristickým příznakem je leukokorie („reflex kočičího oka“), jedná se o šedobělavý reflex v zornici, který může být viditelný na fotografii při použití blesku. Dále je to strabismus a jiné poškození oka, jako například zarudnutí, otoky a heterochromie duhovek (Shields, 2006). U pacientů se mohou rozvinout jiná nádorová

onemocnění, patří mezi ně pineoblastom, osteosarkom, chondrosarkom a melanom (Lindor, 1998).



Obrázek 14 - Leukokorie (převzato z publikace od Kuchynka, 2010)

3.4.7 Ostatní syndromy

3.4.7.1 Syndrom Von Hippel – Lindau

Syndrom VHL je autozomálně dominantní onemocnění, způsobené mutací v genu *VHL* (3p25.3), který formuje proteinový komplex VCB-CUL2. Při mutaci vznikají mnohočetné tumory a cysty, které se objevují v rozdílných částech těla. Pro VHL syndrom jsou typické nádory krevních cév hemangioblastomy, které vznikají v mozku a míše, způsobují zvracení, slabost a ataxii. Tvoří se také v oku, kde se tumor nazývá angiom sítnice. U pacientů se velmi často rozvine rakovina ledvin, zejména světlobuněčný renální karcinom nebo neuroendokrinní nádor pankreatu, což je typ rakoviny pankreatu. Dále se může projevit feochromocytom, který postihuje nadledviny nebo endolymfatický vakový nádor, který se tvoří ve vnitřním uchu a může způsobit ztrátu sluchu (Chittiboina, 2015).

3.4.7.2 Cowdenův syndrom

Onemocnění s autozomálně dominantní dědičností, při kterém dochází k mutaci v genu *PTEN* (10q23.31), která způsobuje porušení životního cyklu buněk. Syndrom se projevuje mnohočetným výskytem kožních, slizničních a střevních hamartomů, což jsou ložiska tvořené z normální tkáně, která se objevují na nesprávném místě a jsou benigního původu (Porto, 2013). Ve 100 % případů vznikají hamartomy ve věku okolo 20 let. Nemocní

mají vyšší riziko vzniku karcinomu prsu, štítné žlázy, endometria, kolorekta, papilomů, melanomů a trichilemomy. Mezi další symptomy patří makrocefalie, mentální retardace a Lhermitte-Duclosova choroba, při které vznikají tumory mozku (Offit, 1998). Mutací genu *PTEN* a podobnými příznaky je diagnostikován syndrom Bannayan-Riley-Ruvalcaba (Porto, 2013).

3.4.7.3 Tuberózní skleróza

Komplex tuberózní sklerózy je autozomálně dominantní onemocnění, které vzniká mutací v genu *TSC1* (9q34), kódující protein hamartin a *TSC2* (16p13.3), kódující protein tuberin. Tyto proteiny zajišťují správné dělení a růst buněk, tudíž narušení funkce, má za následek výskyt benigních hamartomů v orgánech, a to zejména na kůži, v mozku, ledvinách a srdci. Typické je, že pacienti mají různé symptomy a závažnost postižení. V dětském věku i v dospělosti se mohou tvořit astrocytomy, faciální angiofibromy, angiomyolipomy, cysty v ledvinách, šagrénové skvrny, hypomelanotické skvrny, unguální a periunguální fibromy. Projevuje se porucha chování, epilepsie, agresivita a problémy s učením. Je zde vyšší riziko karcinomu ledvin (Orlova, 2010).

3.4.7.4 Li-Fraumeni syndrom

Jedná se o autozomálně dominantní syndrom, který je způsoben mutací v genu *TP53* (17p13.1), jeho produktem je protein p53, jenž funguje jako transkripční faktor, který kontroluje přechod z G1 do S fáze. Jeho další funkce zahrnuje regulaci apoptózy. Syndrom se projevuje vysokou predispozicí k nádorovým onemocněním, a to i v dětském věku, mezi nejčastější nádorové manifestace patří karcinom prsu, osteosarkomy, sarkomy měkkých tkání, maligní melanom, tumor mozku, leukémie a adenokortikální karcinom (Malkin, 2011).

3.4.7.5 Wilmsův tumor

Také jako nefroblastom je autozomálně dominantní onemocnění, které je způsobeno zárodečnou mutací v genu *WT1* (11p13), kódující protein, který reguluje buněčnou proliferaci. Jedná se o formu rakoviny ledvin, která se vyskytuje především v dětském věku, a to do 5 let. Pouze 1 % případů je familiárního původu. Prvním příznakem je otok a bolest břicha, způsobené zvětšenou nebo nekrotickou ledvinou. U pacientů se objevuje anémie, hematurie, hypertenze, ztráta hmotnosti a chuti. Wilmsův tumor je spojen s dalšími syndromy jako je WAGR syndrom, což je Wilmsův tumor s aniridií, Beckwith-Wiedemannův syndrom, který je charakteristický makroglosií, Denys-Drashův syndrom, který je nebezpečný kvůli

selhání ledvin, a familiární hemihypertrofií (Davidoff, 2012). Přibližně 10 až 30 % nemocných má oboustranný karcinom ledvin. Tumor se může rozšířit do dalších částí těla, kdy metastáze postihují především pohlavní a močové ústrojí (Lindor, 1998).

3.5 Prevalence hereditárních syndromů

Tabulka 3 - Prevalence hereditárních syndromů (převzato a upraveno z Genetics Home Reference, 2020)

Syndrom	Prevalence
FAP	1/7000 až 1/22000 (svět)
Lynchův syndrom	1/279 (US)
HBOC	100/2500 (svět)
A-T	1/40000 až 1/100000 (svět)
BS	přibližně 100 případů ve světě
FA	1/160000 (svět)
NBS	1/100000 (svět)
MEN1	1/30000 (svět)
MEN2	1/35000 (svět)
Familiární melanom	30/100000 u mužů za rok (svět) 18/100000 u žen za rok (svět)
XP	1/1000000 (US a Evropa)
NF1	1/3000 až 1/4000 (svět)
NF2	1/330000 (svět)
HDGC	900000 za rok (svět)
PJS	1:25000 až 1/300000
RB	250 až 300 dětí za rok (US)
VHL	1/36000 (svět)
Cowdenův syndrom	1/200000
Tuberózní skleróza	1/6000
Li Fraumeni syndrom	1/5000 až 1/20000
Wilmsův tumor	1/100000 dětí (Evropa a Severní Amerika)

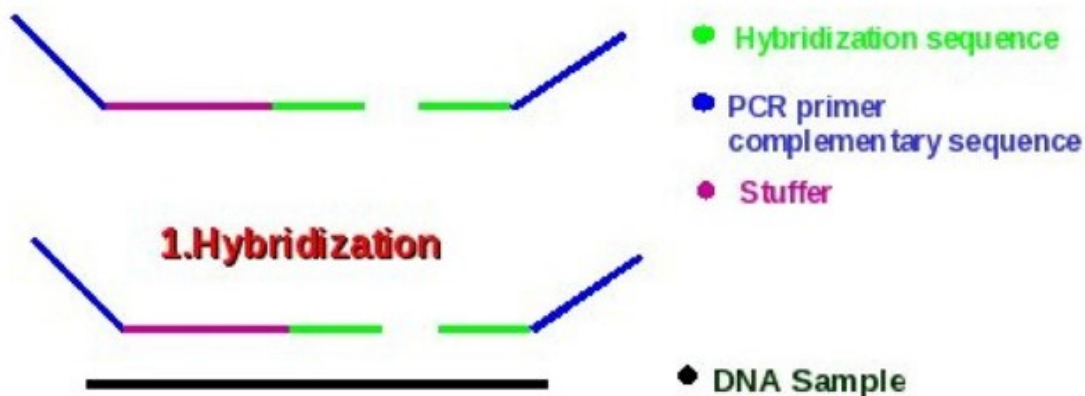
4 MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ DIAGNOSTIKA

4.1 Metoda MLPA

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) byla vyvinuta v roce 2002 firmou MRC-Holland v Amsterdamu, která dodnes poskytuje komerční sady sond pro určení častějších i méně častých vzácných genetických onemocnění. MLPA detekuje delecii a duplikaci vybraných exonů genů nebo celého genu. Metoda je schopna analyzovat až 60 DNA sekvencí a určit změny počtu kopií (z ang. copy number variants, CNVs), a to i malá přeskupení. Využití nachází také při detekci změn methylace DNA (Schouten, 2002). Díky schopnosti analyzovat velký počet genů, je tato metoda velmi využívána při diagnostice hereditárních syndromů nebo také u vývojových anomálií. Pro určení onemocnění související s CNV se využívala metoda fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), která je časově náročná a není schopna rozpoznat malé přestavby nebo analyzovat větší množství genů či genových lokusů v jedné reakci. Dále se používala metoda komparativní genomová hybridizace (CGH), kde se ve většině případů musela provést verifikace výsledků pomocí jiných metod, což obnášelo vysoké náklady na vybavení. Dnes již metodu FISH a CGH ve většině laboratoří nahradila velmi oblíbená metoda MLPA (Stuppia, 2012).

Princip MLPA je založen na amplifikaci více než 60 sond, kdy každá sonda je specifická pro jinou genomovou sekvenci. Jednotlivá sonda se skládá ze dvou částí, oligonukleotidů, které obsahují cílovou sekvenci a PCR primeru. Dále pak jedna sonda obsahuje výplňovou sekvenci, ta určuje rozdílnost délky pro každou sondu. Reakci MLPA lze rozdělit do pěti kroků (MRC-Holland, 2015):

V prvním kroku reakce probíhá denaturace DNA a hybridizace sond. Vzorek izolované DNA, převážně z periferní krve, je ve standardizovaném množství denaturován a přes noc hybridizován se směsí probemixu reakční směsi MLPA. Obě části sondy hybridizují komplementárně k sekvenci testované DNA.



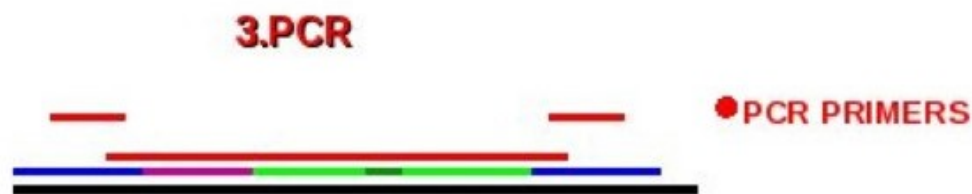
Obrázek 15 - Hybridizace sond (upraveno a převzato od Pantano, 2008)

Ve druhém kroku probíhá ligace sond. Po proběhlé hybridizaci sond na sousedící vyšetřované sekvenční, dochází k ligaci oligonukleotidů v jedinou sondu pomocí enzymu ligázy.



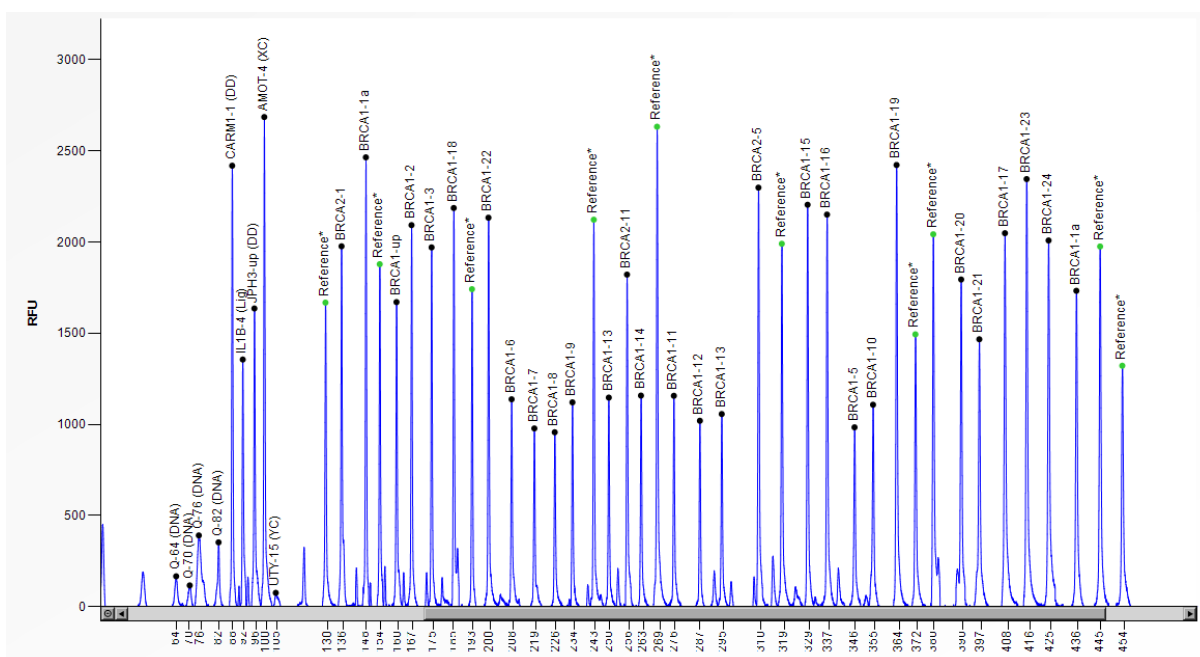
Obrázek 16 - Hybridizace sond (upraveno a převzato od Pantano, 2008)

Ve třetím kroku probíhá již klasická polymerázová řetězová reakce (z ang. polymerase chain reaction, PCR). Všechny ligované sondy jsou amplifikovány pomocí jednoho páru primerů v PCR, přičemž jeden primer je fluorescenčně označen. Tím se liší od typické multiplexní PCR, která vyžaduje použití primerů pro každou cílovou frekvenci zvlášť. Počet produktů ligace sondy značí počet cílových sekvencí vyšetřovaných ve vzorku.



Obrázek 17 - Amplifikace pomocí primerů (upraveno a převzato od Pantano, 2008)

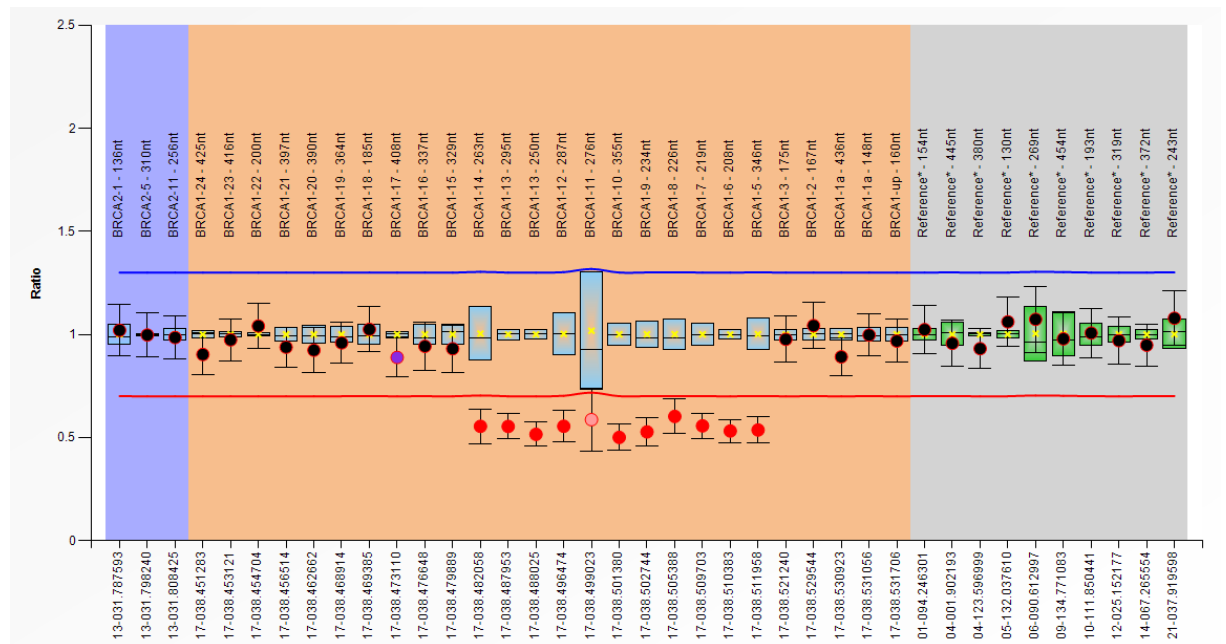
V posledním kroku metody MLPA probíhá separace amplikonů neboli fragmentační analýza. Separace amplikonů je prováděna pomocí kapilární elektroforézy v závislosti na rozdílných délkách amplikonů. Výsledkem fragmentační analýzy je záznam, který se označuje jako elektroforeogram. Každý fragment značí specifickou MLPA sondu. Relativní výška každého píku v elektroforeogramu je porovná s píky referenčních vzorků, což značí relativní množství kopií cílové sekvence ve sledovaném vzorku.



Obrázek 18 - Elektroforeogram metody MLPA s využitím probemixu pro gen *BRCA1*.

Výsledný elektroforeogram u vyšetřované ženy splňující indikační kritéria pro molekulární genetickou analýzu *BRCA1* a *BRCA2* genů (Laboratoře lékařské genetiky s.r.o., Pardubice)

Pro interpretaci výsledků z elektroforeogramu je využíván softwar Coffalyser.Net, vytvořený firmou MRC-Holland. Snížení signálu (tzv. ratio) značí delecí odpovídajícího úseku, naopak zvýšení signálu je charakteristické pro zmnožení kopií specifického úseku.



Obrázek 19 - Vizualizace analyzovaných dat. Ukázka výsledku analýzy metodou MLPA u pacientky s HBOC. Metodou MLPA byla detekována rozsáhlá delecí zasahující exon 5 až 14 v *BRCA1* genu, g.21716_53298del31583 (Laboratoře lékařské genetiky s.r.o., Pardubice)

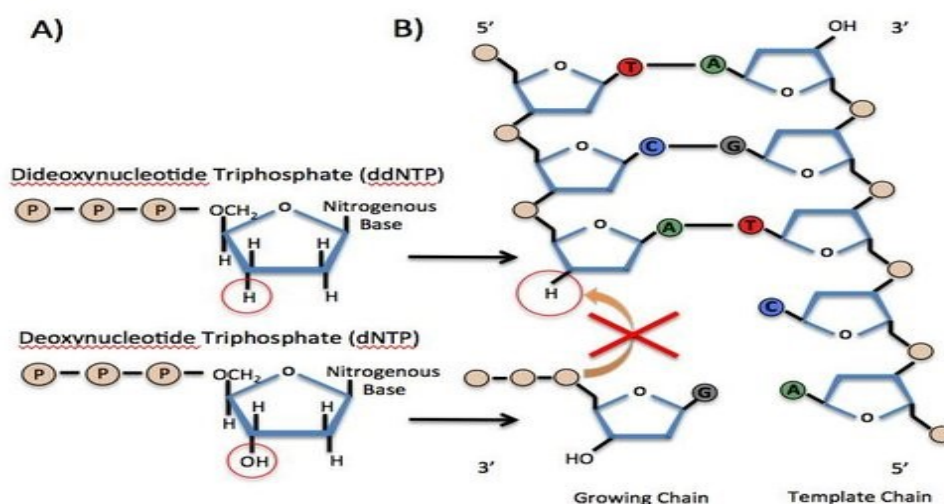
4.2 Sangerovo sekvenování

Tato metoda byla vynalezena a popsána v roce 1977 Frederickem Sangerem, který za tento objev obdržel Nobelovu cenu. Její hlavní význam spočívá v detekci změn v pořadí nukleotidů v neznámém vzorku a odhaluje výskyt mutace ve vzorku o známé sekvenci resp. zarovnání sekvenovaného úseku k referenční genové sekvenci. Dnes preferovanější metodou sekvenování nové generace (NGS), jelikož jsekvenování dle Sangera je schopno sekvenovat pouze jeden úsek DNA, na rozdíl od těchto modernějších metod, které umožní sekvenovat desítky až stovky genů naráz (od toho také název masivně paralelní sekvenování, MPS). Nevýhodou sekvenování dle Sangera je i vyšší cena ve srovnání s nízkou rychlostí (Martínek, 2013). I přesto se metoda hojně využívá především v prediktivních vyšetření, kdy hledáme u přímých příbuzných familiární variantu identifikovanou např. metodami NGS. Dále v analýze genů *BRCA1* a *BRCA2*, kdy pomocí jedné reakce můžeme sekvenovat značnou délku zkoumaných úseků DNA s minimální možností chyb (D'Argenio, 2015).

Pro analýzu se využívá izolovaná DNA, která slouží jako templát, podle kterého se následně tvoří nová vlákna. Nejčastěji se DNA získává ze vzorku periferní krve. K izolované DNA, zmnožené pomocí PCR, jsou dále přidány primery, směs nukleotidtrifosfátů (dATP, dCTP, dGTP a dTTP) a fluorescenčně značené dideoxynukleotidtrifosfáty (ddATP, ddCTP, ddGTP a ddTTP), každý z dideoxynukleotidtrifosfátů nesou rozdílnou barvu.

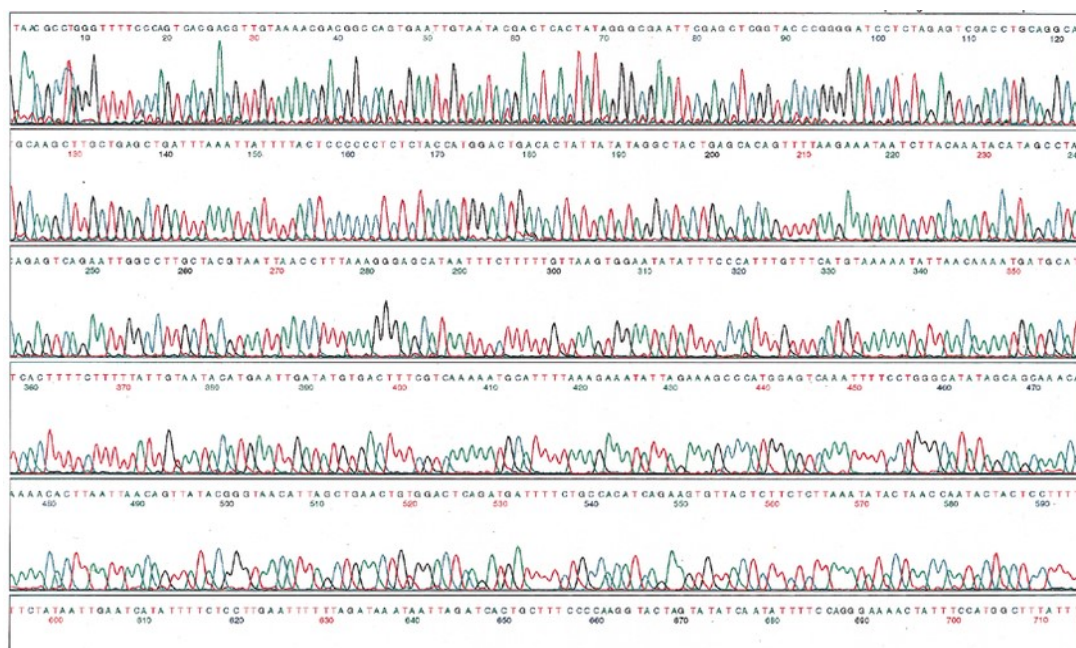
Syntézu nového vlákna DNA zajišťuje enzym DNA polymeráza, a to ve směru od 5' ke 3' konci. Začátek syntézy je určen místem, kam se naváže primer. Polymeráza následně inkorporuje dNTP do nově vznikajícího vlákna, za podmínek komplementarity bází. Reakce probíhá až do okamžiku, kdy se do řetězce naváže ddNTP, tehdy reakce končí. Jelikož dideoxynukleotidtrifosfáty postrádají 3'-OH skupinu, která je potřebná pro vytvoření fosfodiesterové vazby s dalším nukleotidem. Vzniká tak směs různě dlouhých molekul DNA, kdy každá nese na svém 3' konci ddNTP s fluorochromem, rozdílným pro každý nukleotid (Heather, 2016).

Následuje separace podle délky molekul, pomocí kapilární elektroforézy, která již nahradila tradiční horizontální variantu. Z důvodu obsahu zbytků kyseliny fosforečné, nese molekula DNA záporný náboj a putuje tedy k anodě. Kdy kratší úseky budou blíže u anody, protože jak gelem, tak kapilární elektroforézou procházejí rychleji, a naopak delší úseky budou od anody vzdálenější.



Obrázek 20 - Sangerovo sekvenování (upraveno a převzato od McGovern, 2015)

Amplikony sekvenční reakce se při průchodu kapilárou, resp. v detekčním okně kapilární elektroforézy, ozáří laserem, který díky fluorescenční značce emituje záření o určité vlnové délce, lišící se podle nukleotidu přítomném na 3' konci. Vyzářené světlo je snímáno detektorem a výsledný signál se promítne do záznamu, tzv. elektroforeogramu. Výsledné píky značí pořadí nukleotidů v sekvenci DNA a rozdílné barvy udávají jednotlivé báze. Analýza dat je realizována pomocí počítačového softwaru např. SeqA6 studiem, který poskytuje firma Applied Biosystems, ta mimo jiné jako první komerčně používala Sangerovo sekvenování (Chen, 2013).



Obrázek 21 - Vizualizace analyzovaných dat (upraveno a převzato od Rosenblum, 1997)

4.3 Sekvenování DNA nové generace

Sekvenační metody nové generace, které se začaly objevovat v 90. letech 20. století, získaly své hojné využití hlavně díky možnosti masivně paralelně sekvenovat velké množství (tisíce až miliony) molekul DNA najednou, což je výrazný rozdíl od tradiční Sangerovy metody. Za nízkou cenu a krátký čas lze získat sekvenci celého lidského genomu. Nevýhoda NGS je krátká maximální délka sekvencí, která činí 100 až 500 bází, oproti tomu metoda dle Sangera poskytuje až 1000 bází, dále pak menší přesnost a větší možnost chyb při čtení DNA (Voelkerding, 2009).

Ačkoliv jsou všechny metody rozdílné, zahrnují některé společné znaky. První je příprava knihovny naštěpením DNA. Dále pak následné sekvenování s detekcí inkorporovaných nukleotidů a analýza dat s hodnocením výsledků.

Mezi hlavní platformy využívané v současné době na principu amplifikace patří Ion Torrent by Life Technologies, SOLiD a Illumina (Solexa), kdy tato metoda je v současnosti nejpoužívanější. Své uplatnění NGS našly zejména v diagnostice dědičných nádorových onemocnění (Koubková, 2014)

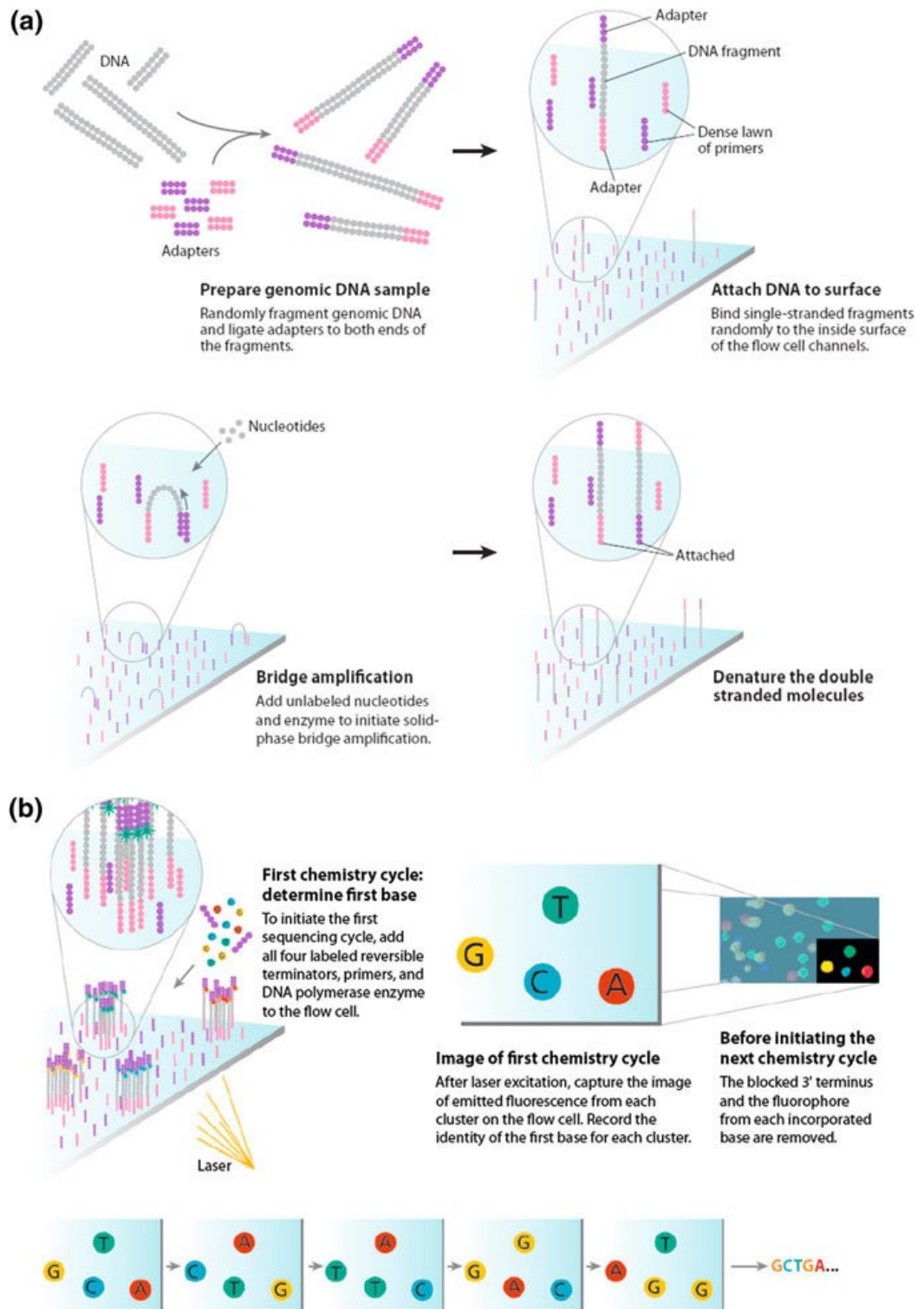
4.3.1 Illumina (Solexa)

Společnost Illumina se na trhu objevila v roce 2007, zakoupením firmy Solexa. Metoda je založena na začlenění značených nukleotidů do nového řetězce DNA.

Princip metody Illumina zahrnuje naštěpení DNA na menší fragmenty, takto upravená DNA se označuje jako sekvenační knihovna. Následně se na jejich konce naváže adaptor, který slouží k navázání na pevný povrch. V následné PCR reakci se adaptor prodlužuje pomocí polymerázy a vytvoří se dvojláknový most (bridge). Celý postup se opakuje a je označován jako tzv. můstková amplifikace (z angl. "bridge amplification") (Ansorge, 2009).

Po uchycení na povrch jsou denaturována dvouvlákna, odštěpeny a odmyty reverzní řetězce. Zůstanou pouze klastry neboli namnožené a identické kopie DNA, určené pro samotnou sekvenaci. Primery jsou hybridizovány k adaptorovým sekvencím, tedy všechny fragmenty jsou sekvenovány stejným primerem. Ke klastrům se přidá směs polymerázy a fluorescenčně značených nukleotidů s inaktivovanou 3'-OH skupinou.

Když dojde k zařazení nukleotidu do řetězce, je pozice a typ nukleotidu zaznamenán pomocí kamery, díky fluorescenční značce. Dále se blokující skupina a fluorochrom odstraní z 3' konce řetězce a celý proces se opakuje od začátku. Metoda je rychlá a levná, avšak objevuje se vyšší chybovost, zejména při špatně přečtené bázi (Syed, 2009).



Obrázek 22 – Princip metody Illumina (převzato od Masoudi-Nejad, 2013)

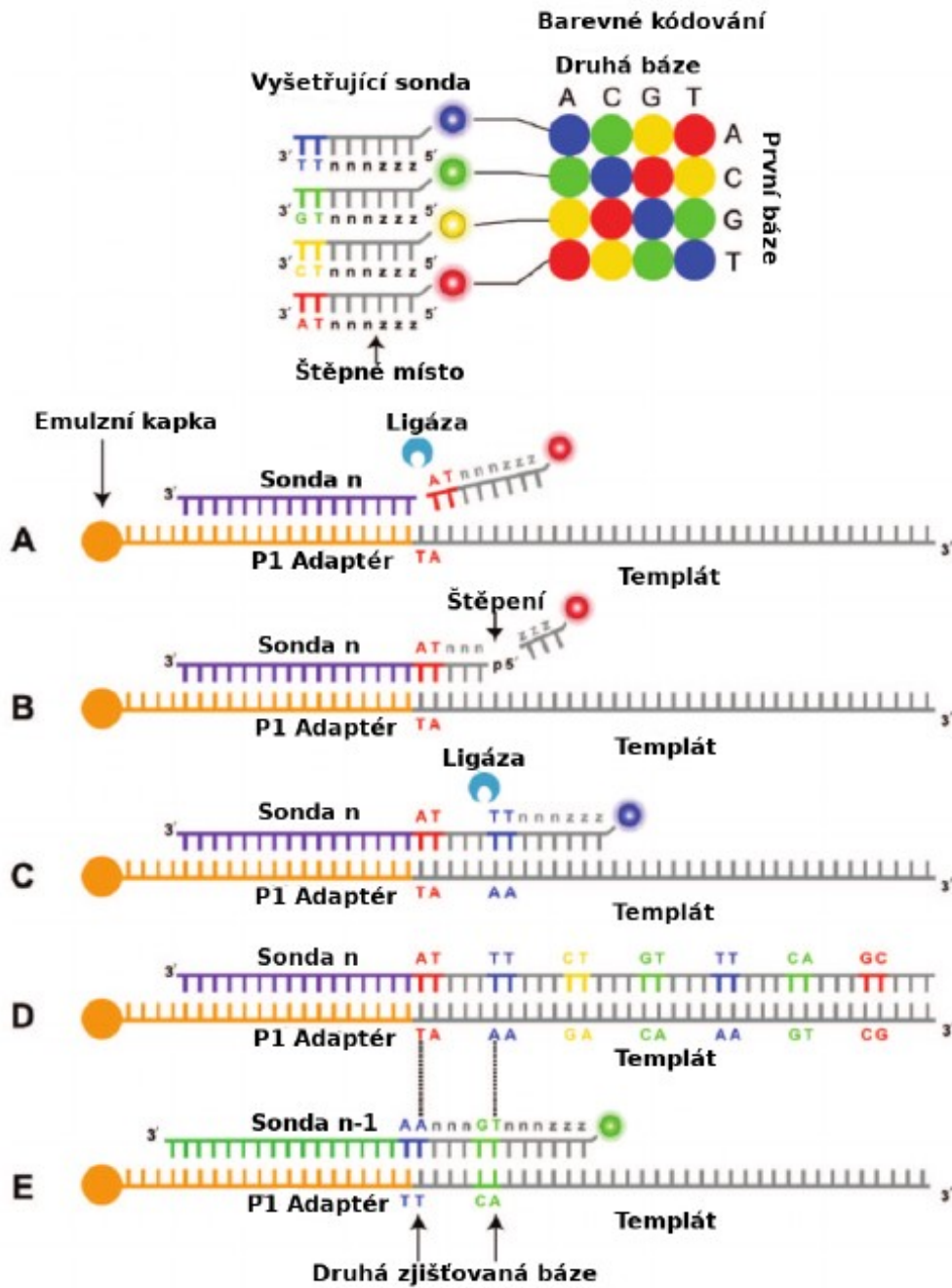
4.3.2 SOLiD

Sequencing by Oligonucleotide Ligation and Detection (SOLiD) byla představena v roce 2007 firmou Life Technologies a využívá sekvenování ligací.

Sekvenační knihovna je tvořena ligací rozdílných adaptorů (P1 a P2) na 3' a 5' konci fragmentů, které jsou komplementární k nukleotidům na povrchu kuličky. Po využití emulzní PCR k amplifikaci, se kuličky navážou na sklíčko se speciálně upraveným povrchem, které je vkládáno do kazety sekvenátoru (Morozova, 2008).

Charakteristické je využití čtyř odlišně fluorescenčně značených sond o velikosti 8 nukleotidů tzv. oktamerů. Každá sonda obsahuje sekvenci prvních dvou bází a šesti náhodných nukleotidů na 3' konci. Pomocí ligázy jsou sondy připojeny k promotoru, což značí začátek reakce. Fluorochrom obsažený na 5' konci brání ligaci dalšího oktameru na 5' konci v průběhu jednoho cyklu sekvenování. Po detekci je sonda se třemi posledními nukleotidy oktameru odštěpena a po dosažení pěti cyklů je celý proces zopakován, avšak s primerem o jeden nukleotid kratší než primární primer. Pomocí jedné fluorescenční barvy lze identifikovat čtyři dinukleotidové sekvence. Celkem tedy můžeme rozlišit 16 kombinací dinukleotidů.

Výhodou metody SOLiD je, že přečte každý nukleotid dvakrát a tím zaručuje vysokou přesnost (McKernan, 2009).

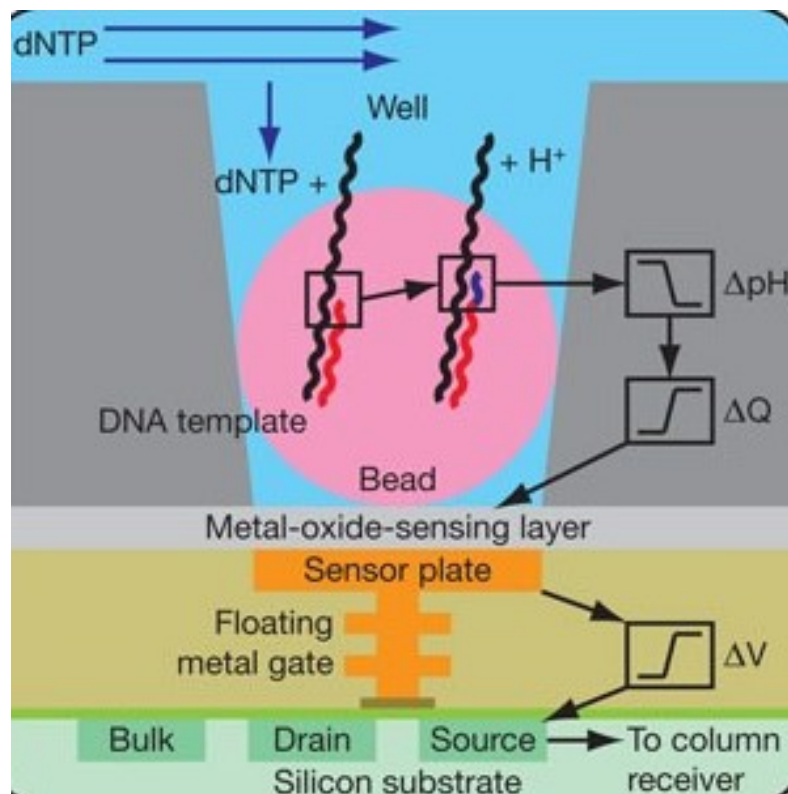


Obrázek 23 - Princip metody SOLiD (upraveno a převzato: Voelkerding, 2009)

4.3.3 Ion Torrent

V roce 2010 představila firma Life Technologies svoji další platformu k sekvenování DNA. Na rozdíl od předchozích metod, které využívají fluorescenčně značené nukleotidy, technika Ion Torrent používá k detekci vodíkové ionty, uvolněné při syntéze nově vznikajícího vlákna DNA (Ross, 2011).

Začátek reakce je stejný jako u metody SOLiD, kdy po vytvoření sekvenační knihovny, vzniklé fragmenty ligují s adaptory a amplifikují pomocí emulzní PCR na kuličkách potaženými komplementárními primery. Sekvenování probíhá na polovodičové bázi, a to v mikrojamkách, ve kterých jsou obsaženy kuličky s navázanými fragmenty. Následuje přísun jednotlivých nukleotidů. Enzym DNA-polymeráza začleňuje nukleotidy do nově vznikajícího řetězce DNA, a přitom jsou uvolňovány vodíkové ionty. Tento děj způsobuje změnu pH, kterou zaznamenává detektor. Výsledný graf značí změnu pH k jednotlivým nukleotidům (Rothberg, 2011).



Obrázek 24 - Princip metody Ion Torrent (upraveno a převzato od Rothberg, 2011)

5 LÉČBA

Na základě lékařské prohlídky, doporučí jednotlivce ke genetickému vyšetření praktický lékař nebo gynekolog. Pohovor s klinickým genetikem zahrnuje zjištění osobní anamnézy a informací o zdravotním stavu rodinných příslušníků a je sestaven minimálně třígenerační rodokmen. Na základě předchozích údajů, je pacientovi sděleno riziko projevu onemocnění a vysvětlena jeho problematika. Následně s informovaným souhlasem pacienta, je proveden odběr vzorku k pozdější diagnostice, nejčastěji se jedná o periferní krev, dále je možný odběr a izolace genomové DNA ze vzorků bukalního stěr, v případě gravidity je možné vyšetřit plodovou vodu nebo choriové klky. Celkové vyšetření až po konečnou diagnózu může trvat týdny i měsíce (FN Brno, 2016).

V současnosti léčba dědičných nádorových syndromů zahrnuje poznatky molekulárně genetického testování, to je analýza DNA, RNA, chromozomů a proteinů a může tedy ovlivnit kroky chemoprevence a podávání inhibičních léků. Při léčbě HBOC přinesly nové poznatky pokrok v léčbě pacientek s mutací v genech *BRCA1,2*. Zavedení platinového derivátu do neadjuvantní léčby pacientek s mutací výrazně zvýšilo počet dosažených remisí. Inhibitory PARP, superrodina 17 PARP [poly(ADP-ribose)polymerázy] enzymů, nízkomolekulárních látek, přičemž významné jsou PARP1 a PARP2, které jsou aktivovány poškozením genomové DNA. Ve zdravých tkáních proteiny genů *BRCA1,2* a *PARP1* se spolupodílejí na opravách poškozené DNA. V buňkách, kde se nachází mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2* dochází k excitaci bází a vznik chromozomových aberací, inhibice PARP vede k buněčné smrti, protože dochází ke konverzi z jednoho na dvouvláknové zlomy během procesu replikace, která kolabuje (Rehman, 2010). U onemocnění FAP se využívá inhibitor cyklooxygenázy-2 celecoxib, který u většiny nemocných způsobí úplné vymizení polypů. Pacientům s HNPCC je podáván fluoracil (5-FU), ten blokuje enzym tymidylátsyntetázu a tím je blokována syntéza DNA (Imyanitov, 2011).

V budoucnosti se přikládá význam moderní metodě, genové terapii, která byla poprvé klinicky použita v roce 2003 (EBioMedicine, 2019). Genovou terapií se rozumí vpravení genetického materiálu do buňky, za účelem nahrazení nebo reparace mutovaného genu. Pro správnou funkci vloženého genu se využívají nosiče, tzv. vektory, jsou to převážně viry. Metoda je stále na experimentální úrovni a pro trvalé využití bude muset překonat mnohé nevýhody a etickou otázku, zda je správné měnit genetickou informaci u člověka (Gonçalves, 2017).

6 ZÁVĚR

Hereditární formy solidních nádorů tvoří přibližně 10 % všech případů malignit. Charakterizace příčiny genetického rizika v rodinách s dědičným výskytem nádorových onemocnění je klíčovým úkolem, který umožňuje zlepšení zdravotní péče a prognózy pro nositele patogenních variant. S nástupem nových sekvenčních technik je nyní s oblibou používáno masivní testování několik desítek kauzálních genů, které jsou zahrnuty v etiopatogenezi různých dědičných syndromů predisponujících k nádorovým onemocněním. Cílem testování širokého spektra potenciálních genů je v co nejkratší možné době vyšetřit velký panel genů, identifikovat kauzální variantu způsobující onemocnění, což nám umožňuje zvýšení zachytu nositelů patogenních alterací.

Při studiu dědičných syndromů, hlavně z důvodu léčby, je důležitý stálý dohled na pacienta, který již zdědil predispozice pro určitou nemoc, nebo potenciálního pacienta, u kterého se onemocnění ještě nerozvinulo. Proto je podstatnou součástí dispenzarizace, tedy pravidelné sledování osob, nesoucí mutaci v kauzálním gen. Význam spočívá v raném podchycení choroby spojené s rychlou léčbou. Kvůli častému návratu nádorového onemocnění, je u onkologických pacientů nutné pozorování i po ukončení léčby, a to právě z možné recidivy. Dalším klíčovým parametrem je stratifikace pacientů, kdy jsou rozděleny podle rizikových faktorů, díky tomu můžeme posoudit, jak léčba působí na jednotlivá pohlaví, etnikum nebo jak probíhalo předchozí léčení.

Vysoce účinná a významnou část při boji s nádorovým onemocněním jsou preventivní opatření, která dokonce mohou člověku pomoci se nemocí vyhnout. Takzvaná primární onkologická prevence souvisí se změnou životního stylu. V případě dědičné predispozice, se však onemocnění těžce předchází a jedná se o tzv. sekundární prevenci, která právě souvisí s časným zachytem nemoci. Což je ve spojení s úspěšnější léčbou, jelikož prvotní stádium nádoru je snadněji léčitelné, na rozdíl od pozdějších či pokročilých stádií choroby.

Onkologická onemocnění se bohužel objevují stále častěji a způsobují razantní zásah do života postiženého jedince, tak i celé jeho rodiny. I když jde převážně o náhodný výskyt, je patrné že vliv dědičnosti by se neměl brát na lehkou váhu, a proto je důležité nepodceňovat symptomy, které by mohly vést ke vzniku nádorového onemocnění. Každý jednatel by se měl zajímat o svou rodinnou anamnézu, z důvodu včasného zachycení nemoci a následné léčby, kterou moderní doba nabízí.

7 POUŽITÁ LITERATURA

ANSORGE, Wilhelm J. Next-generation DNA sequencing techniques. *New Biotechnology* [online]. 2009, **25**(4), 195-203 [cit. 2020-05-30]. DOI: 10.1016/j.nbt.2008.12.009. ISSN 18716784. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871678409000089>

ASTHAGIRI, Ashok R, Dilys M PARRY, John A BUTMAN, H Jeffrey KIM, Ekaterini T TSILOU, Zhengping ZHUANG a Russell R LONER. Neurofibromatosis type 2. *The Lancet* [online]. 2009, 373(9679), 1974-1986 [cit. 2020-05-01]. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60259-2. ISSN 01406736. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673609602592>

AUERBACH, Arleen D. Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* [online]. 2009, 668(1-2), 4-10 [cit. 2020-04-08]. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2009.01.013. ISSN 00275107. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0027510709000530>

BAJČIOVÁ, Viera. K nádorům predisponující syndromy v dětském věku – role pediatra primárního kontaktu. *Pediatric pro praxi* [online]. 2015, 16(5), 300-304 [cit. 2020-04-02]. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2015/05/03.pdf>

BLACK, Jennifer O. Xeroderma Pigmentosum. *Head and Neck Pathology* [online]. 2016, 10(2), 139-144 [cit. 2020-04-22]. DOI: 10.1007/s12105-016-0707-8. ISSN 1936-055X. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12105-016-0707-8>

BOYD, Kevin P., Bruce R. KORF a Amy THEOS. Neurofibromatosis type 1. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2009, 61(1), 1-14 [cit. 2020-04-11]. DOI: 10.1016/j.jaad.2008.12.051. ISSN 01909622. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962209004058>

BURKE, Carol. Should We Rethink Cancer Risk Staging in Familial Adenomatous Polyposis?: Research examines risk factors. In: *Cleveland Clinic* [online]. Ohio: Cleveland Clinic, 1995-2020, 2019 [cit. 2020-03-20]. Dostupné z: <https://consultqd.clevelandclinic.org/should-we-rethink-cancer-risk-staging-in-familial-adenomatous-polyposis/>

CHEN, Fei, Mengxing DONG, Meng GE, Lingxiang ZHU, Lufeng REN, Guocheng LIU a Rong MU. The History and Advances of Reversible Terminators Used in New Generations of Sequencing Technology. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* [online]. 2013, **11**(1), 34-40 [cit. 2020-06-01]. DOI: 10.1016/j.gpb.2013.01.003. ISSN 16720229. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1672022913000077>

CHITTIBOINA, Prashant a Russell R. LONER. Von Hippel–Lindau disease. Neurocutaneous Syndromes [online]. Elsevier, 2015, 2015, s. 139-156 [cit. 2020-04-06]. Handbook of Clinical Neurology. DOI: 10.1016/B978-0-444-62702-5.00010-X. ISBN 9780444627025. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444627025>

CIKRT M., MÁLEK B. Pracovní lékařství, I. díl – Hygiena práce, CIVOP, Praha, 1995, 253 s. ISBN 80-900151-2-3

CRUCIANI, Filippo, Domenica CARMEN PIRAINO, Giorgio ALBANESE, Siavash RAHIMI a Barmak ABDOLRAHIMZADEH. Neurofibromatosis: an update of ophthalmic characteristics and applications of optical coherence tomography. *Clinical Ophthalmology* [online]. 2016, 10, 851-860 [cit. 2020-02-22]. DOI: 10.2147/OPHTH.S102830. ISSN 1177-5483. Dostupné z: <https://www.dovepress.com/neurofibromatosis-an-update-of-ophthalmic-characteristics-and-applicat-peer-reviewed-article-OPHTH>

CUNNIFF, Christopher, Jennifer A. BASSETTI a Nathan A. ELLIS. Bloom's Syndrome: Clinical Spectrum, Molecular Pathogenesis, and Cancer Predisposition. *Molecular Syndromology* [online]. 2017, 8(1), 4-23 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1159/000452082. ISSN 1661-8769. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/452082>

D'ARGENIO, Valeria, Maria Valeria ESPOSITO, Antonella TELESE, et al. The molecular analysis of BRCA1 and BRCA2: Next-generation sequencing supersedes conventional approaches. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2015, **446**, 221-225 [cit. 2020-05-28]. DOI: 10.1016/j.cca.2015.03.045. ISSN 00098981. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898115001989>

DAVIDOFF, Andrew M. Wilms Tumor. *Advances in Pediatrics* [online]. 2012, 59(1), 247-267 [cit. 2020-04-02]. DOI: 10.1016/j.yapd.2012.04.001. ISSN 00653101. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065310112000023>

DĘBNIAK, Tadeusz. Familial Malignant Melanoma - Overview. *Hereditary Cancer in Clinical Practice* [online]. 2004, 2(3) [cit. 2020-04-22]. DOI: 10.1186/1897-4287-2-3-123. ISSN 1897-4287. Dostupné z: <http://hccpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1897-4287-2-3-123>

EVANS, DGareth R. Neurofibromatosis type 2 (NF2): A clinical and molecular review. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 2009, 4(1) [cit. 2020-04-17]. DOI: 10.1186/1750-1172-4-16. ISSN 1750-1172. Dostupné z: <https://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-4-16>

Genetics Home Reference [online]. USA: Bethesda, [2020] [cit. 2020-02-20]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/>

GERBER, PA, AS ANTAL, NJ NEUMANN, B HOMEY, C MATUSCHEK, M PEIPER, W BUDACH a E BÖLKE. Neurofibromatosis. *European Journal of Medical Research* [online]. 2009, 14(3) [cit. 2020-04-08]. DOI: 10.1186/2047-783X-14-3-102. ISSN 2047-783X. Dostupné z: <https://eurjmedres.biomedcentral.com/articles/10.1186/2047-783X-14-3-102>

Global Cancer Observatory [online]. Lyon: IARC, [2019] [cit. 2020-04-01]. Dostupné z: <https://gco.iarc.fr/>

GONDAK, RO., R. DA SILVA-JORGE, J. JORGE, MA. LOPES a PA. VARGAS. Oral pigmented lesions: Clinicopathologic features and review of the literature. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal* [online]. 2012, 17(6) [cit. 2020-03-28]. DOI: 10.4317/medoral.17679. ISSN 16986946. Dostupné z: http://www.medicinaoral.com/pubmed/medoralv17_i6_p919.pdf

HEATHER, James M. a Benjamin CHAIN. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics* [online]. 2016, **107**(1), 1-8 [cit. 2020-06-04]. DOI: 10.1016/j.ygeno.2015.11.003. ISSN 08887543. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0888754315300410>

HOFMANOVÁ, Jiřina. Genotoxicita a karcinogeneze [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2013 [cit. 2020-04-03]. ISSN 1802-128X. Dostupné z: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/genotox/web/index.html>

CHRZANOWSKA, Krystyna H, Hanna GREGOREK, Bożenna DEMBOWSKA-BAGIŃSKA, Maria A KALINA a Martin DIGWEED. Nijmegen breakage syndrome (NBS). *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 2012, 7(1) [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1186/1750-1172-7-13. ISSN 1750-1172. Dostupné z: <http://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-7-13>

KACEROVSKÁ, Denisa, Dmitry KAZAKOV a Kateřina ČERNÁ, et al. Muir-Torre syndrom-fenotypická varianta Lynchova syndromu. *Česko-slovenská patologie*. 2010, 46(4), 86-94 [cit. 2020-04-27]

KAMILARIS, Crystal D. C. a Constantine A. STRATAKIS. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1): An Update and the Significance of Early Genetic and Clinical Diagnosis. *Frontiers in Endocrinology* [online]. 2019, 10 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.3389/fendo.2019.00339. ISSN 1664-2392. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2019.00339/full>

KIM, You Soo, Chang Seok OH, Jong Ha HONG, Moon-Woo SEONG a Dong Hoon SHIN. Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) Assay on Joseon Mummified Samples from Archaeological Sites of South Korea. *Korean Journal of Physical Anthropology* [online]. 2015, 28(3) [cit. 2020-06-01]. DOI: 10.11637/kjpa.2015.28.3.137. ISSN 1225-150X. Dostupné z: <https://e-aba.org/DOIX.php?id=10.11637/kjpa.2015.28.3.137>

KLEIBL, Zdenek a Vessela N. KRISTENSEN. Women at high risk of breast cancer: Molecular characteristics, clinical presentation and management. *The Breast* [online]. 2016, 28, 136-144 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.breast.2016.05.006. ISSN 09609776. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960977616300650>

KLEIBLOVÁ, Petra, Lenka STOLAŘOVÁ, Kateřina KŘÍŽOVÁ, et al. Germline CHEK2 Gene Mutations in Hereditary Breast Cancer Predisposition – Mutation Types and their Biological and Clinical Relevance. *Klinická Onkologie* [online]. 2019, 32(Suppl 2) [cit. 2020-04-08]. DOI: 10.14735/amko2019S36. ISSN 0862495X. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/english-summary/klinicka-onkologie-journal/2019-08-18-supplementum-2-en/dedicne-mutace-v-genu-chek2-jako-pricina-dispozice-k-nadorum-prsu-typy-mutaci-je-1/>

KNUDSON, Alfred G. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1971, **68**(4), 820-823 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.1073/pnas.68.4.820. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.68.4.820>

KNUDSON, Alfred G. Two genetic hits (more or less) to cancer. *Nature Reviews Cancer* [online]. 2001, 1(2), 157-162 [cit. 2020-04-04]. DOI: 10.1038/35101031. ISSN 1474-175X. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/35101031>

KOPÁČOVÁ, Marcela, Ilja TACHECI, Stanislav REJCHRT a Jan BURES. Peutz-Jeghers syndrome: Diagnostic and therapeutic approach. *World Journal of Gastroenterology* [online]. 2009, 15(43) [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.3748/wjg.15.5397. ISSN 1007-9327. Dostupné z: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v15/i43/5397.htm>

KOČÁREK, Eduard. Genetika: obecná genetika a cytogenetika, molekulární biologie, biotechnologie, genomika. 2. vyd. Praha: Scientia, 2008. Biologie pro gymnázia. ISBN 9788086960364.

KOUBKOVÁ, Lucie, Bořivoj VOJTĚŠEK a Rostislav VYZULA. Next Generation Sequencing – Application in Clinical Practice. *Klinická onkologie* [online]. 2014, **27**(Suppl 1), S61-S68 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.14735/amko20141S61. ISSN 0862495X. Dostupné z: <http://www.linkos.cz/klinicka-onkologie-journal/search-for-articles/skupina/a/zobrazit/ids/4484/>

KUCHYNKA, Pavel. Oční lékařství. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1163-8.

LEHMANN, Alan R, David MCGIBBON a Miria STEFANINI. Xeroderma pigmentosum. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 2011, 6(1) [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1186/1750-1172-6-70. ISSN 1750-1172. Dostupné z: <http://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-6-70>

LINDOR, Noralane M. a Mark H. GREENE. The Concise Handbook of Family Cancer Syndromes. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* [online]. 1998, 90(14), 1039-1071 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1093/jnci/90.14.1039. ISSN 0027-8874. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jnci/article/90/14/1039/926274>

MACCARTHY, A., G.J. DRAPER, Eva STELIAROVA-FOUCHER a J.E. KINGSTON. Retinoblastoma incidence and survival in European children (1978–1997). Report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *European Journal of Cancer* [online]. 2006, 42(13), 2092-2102 [cit. 2020-04-19]. DOI: 10.1016/j.ejca.2006.06.003. ISSN 09598049. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095980490600476X>

MALKIN, D. Li-Fraumeni Syndrome. *Genes & Cancer* [online]. 2011, 2(4), 475-484 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1177/1947601911413466. ISSN 1947-6019. Dostupné z: <http://gan.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/1947601911413466>

MARDIS, Elaine R. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends in Genetics* [online]. 2008, 24(3), 133-141 [cit. 2020-05-22]. DOI: 10.1016/j.tig.2007.12.007. ISSN 01689525. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168952508000231>

MARGULIES, Marcel, Michael EGHOLM, William E. ALTMAN, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* [online]. 2005, 437(7057), 376-380 [cit. 2020-05-25]. DOI: 10.1038/nature03959. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nature03959>

MARTÍNEK, P., J. STEHLÍK, P. GROSSMAN, M. ŠEDIVCOVÁ, J. KAŠPÍRKOVÁ a T. VANEČEK. Sekvenování – klasická metodika. *Česko-slovenská patologie a soudní lékařství*. 2013, 49(3), 122-128 [cit. 2020-05-20]

MASOUDI-NEJAD, Ali, Zahra NARIMANI a Nazanin HOSSEINKHAN. De Novo Assembly Algorithms. MASOUDI-NEJAD, Ali, Zahra NARIMANI a Nazanin HOSSEINKHAN. *Next Generation Sequencing and Sequence Assembly* [online]. New York, NY: Springer New York, 2013, 2013-7-9, s. 55-83 [cit. 2020-07-14]. SpringerBriefs in Systems Biology. DOI: 10.1007/978-1-4614-7726-6_4. ISBN 978-1-4614-7725-9. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-7726-6_4

MAVADDAT, Nasim, Susan PEOCK, Debra FROST, et al. Cancer Risks for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: Results From Prospective Analysis of EMBRACE. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* [online]. 2013, 105(11), 812-822 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1093/jnci/djt095. ISSN 0027-8874. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jnci/article/105/11/812/1004115>

MCGOVERN, Rachel A. *The Use of Genetic Sequencing Technologies to Determine HIV-1 Viral Tropism and to Evaluate the Effects of Maraviroc on Patient Viral Populations* [online]. 2015 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.14288/1.0166738. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/303565848_The_Use_of_Genetic_Sequencing_Technologies_to_Determine_HIV-1_Viral_Tropism_and_to_Evaluate_the_Effects_of_Maraviroc_on_Patient_Viral_Populations

MCKERNAN, K. J., H. E. PECKHAM, G. L. COSTA, et al. Sequence and structural variation in a human genome uncovered by short-read, massively parallel ligation sequencing using two-base encoding. *Genome Research* [online]. 2009, **19**(9), 1527-1541 [cit. 2020-06-11]. DOI: 10.1101/gr.091868.109. ISSN 1088-9051. Dostupné z: <http://genome.cshlp.org/cgi/doi/10.1101/gr.091868.109>

MILLER E. C., MILLER J. A. The Metabolism of Chemical Carcinogens to Reactive Electrophiles and their Possible Mechanisms of Action in Carcinogenesis. In: *Chemical carcinogens*. Ed.: C. S. searle, ACS Monograph 1973, Am. Chem. Soc., Washington, 1976, pp. 737-762 [cit. 2020-04-07]

MOROZOVA, Olena a Marco A. MARRA. Applications of next-generation sequencing technologies in functional genomics. *Genomics* [online]. 2008, **92**(5), 255-264 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.1016/j.ygeno.2008.07.001. ISSN 08887543. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0888754308001651>

MORTON, N. E., J. F. CROW a H. J. MULLER. AN ESTIMATE OF THE MUTATIONAL DAMAGE IN MAN FROM DATA ON CONSANGUINEOUS MARRIAGES. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1956, **42**(11), 855-863 [cit. 2020-03-30]. DOI: 10.1073/pnas.42.11.855. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.42.11.855>

MRC-Holland. 2015. About MRC-Holland [online]. [cit. 2020-06-08]. Dostupné z: http://mlpa.com/WebForms/WebFormMain.aspx?Tag=_G1U3PYAOzf1CKUYbfGWqf8Pu6Ry9zubLiupe67yfWQk

NAVRÁTILOVÁ, Marie. Familiární a hereditární riziko malignit [přednáška]. In: *Linkos* [online]. Praha, 19. dubna 2013. [vid. 2020-03-28]. Záznam dostupný z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/geneticka-rizika/prednasky-rizika/familiarni-a-hereditarni-riziko-malignit/>

NCCN Guidelines version 2.2015 (online). Hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome. National Comprehensive Cancer Network. [cit. 2020-04-18] Dostupné z: http://www.nccn.org.professionals/physician_gls/f_guidelines.asp

NEČAS, Emanuel. Obecná patologická fyziologie. Praha: Karolinum, 2000. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0051-x.

OFFIT, Kenneth. Clinical Cancer Genetics: Risk Counseling and Management. New York: Wiley-Liss, 1998, s. 125-148. ISBN 9780471146551

OLIVEIRA, Paula A., Aura COLAÇO, Raquel CHAVES, Henrique GUEDES-PINTO, Luis F. DE-LA-CRUZ P. a Carlos LOPES. Chemical carcinogenesis. Anais da Academia Brasileira de Ciências [online]. 2007, 79(4), 593-616 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1590/S0001-37652007000400004. ISSN 0001-3765. Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652007000400004&lng=en&tlng=en

ONITILO, A. A., G. ARYAL a J. M. ENGEL. Hereditary Diffuse Gastric Cancer: A Family Diagnosis and Treatment. Clinical Medicine & Research [online]. 2013, 11(1), 36-41 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.3121/cmr.2012.1071. ISSN 1539-4182. Dostupné z: <http://www.clinmedres.org/cgi/doi/10.3121/cmr.2012.1071>

ORLOVA, Ksenia A. a Peter B. CRINO. The tuberous sclerosis complex. Annals of the New York Academy of Sciences [online]. 2010, 1184(1), 87-105 [cit. 2020-03-28]. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.05117.x. ISSN 00778923. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.2009.05117.x>

PIERCE, Benjamin A. Genetics: A Conceptual Approach. 6th ed. New York: W H Freeman & Co, 2017. ISBN 9781319050962

PANTANO, Lorena, Lluís ARMENGOL, Sergi VILLATORO a Xavier ESTIVILL. ProSeeK: A web server for MLPA probe design. *BMC Genomics* [online]. 2008, 9(1) [cit. 2020-05-29]. DOI: 10.1186/1471-2164-9-573. ISSN 1471-2164. Dostupné z: <http://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-9-573>

PAYNE, Shannon R. a Christopher J. KEMP. Tumor suppressor genetics. *Carcinogenesis* [online]. 2005, 26(12), 2031-2045 [cit. 2020-03-20]. DOI: 10.1093/carcin/bgi223. ISSN 1460-2180. Dostupné z: <http://academic.oup.com/carcin/article/26/12/2031/2390810/Tumor-suppressor-genetics>

PLEVOVÁ, Pavlína, Jitka ŠTEKROVÁ, Milada KOHOUTOVÁ, et al. Familiární adenomatózní polypóza. *Klinická Onkologie* [online]. 2009,22 (Suppl 1), 16-19 [cit. 2020-04-03]. ISSN 0862-495 X. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/casopis-klinicka-onkologie/2009-06-10-supplement-1/familiarni-adenomatozni-polypoza/>

PORTO, Ana Carolina Souza, Elisabeth ROIDER a Thomas RUZICKA. Cowden Syndrome: report of a case and brief review of literature. *Anais Brasileiros de Dermatologia* [online]. 2013, 88(6 suppl 1), 52-52 [cit. 2020-03-11]. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20132578. ISSN 0365-0596. Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962013000800052&lng=en&tlng=en

RAHNER, Nils a Verena STEINKE. Hereditary Cancer Syndromes. *Deutsches Aerzteblatt Online* [online]. 2008 [cit. 2020-03-03]. DOI: 10.3238/arztebl.2008.0706. ISSN 1866-0452. Dostupné z: <https://www.aerzteblatt.de/10.3238/arztebl.2008.0706>

REHMAN, Farah L., Christopher J. LORD a Alan ASHWORTH. Synthetic lethal approaches to breast cancer therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology* [online]. 2010, 7(12), 718-724 [cit. 2020-07-20]. DOI: 10.1038/nrclinonc.2010.172. ISSN 1759-4774. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nrclinonc.2010.172>

RONAGHI, M. Pyrosequencing Sheds Light on DNA Sequencing. *Genome Research* [online]. 11(1), 3-11 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1101/gr.11.1.3. ISSN 10889051. Dostupné z: <http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.11.1.3>

ROSENBLUM, B. New dye-labeled terminators for improved DNA sequencing patterns. *Nucleic Acids Research* [online]. 1997, 25(22), 4500-4504 [cit. 2020-06-13]. DOI: 10.1093/nar/25.22.4500. ISSN 13624962. Dostupné z: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/25.22.4500>

ROSS, Jeffrey S. a Maureen CRONIN. Whole Cancer Genome Sequencing by Next-Generation Methods. *American Journal of Clinical Pathology* [online]. 2011, 136(4), 527-539 [cit. 2020-05-31]. DOI: 10.1309/AJCPR1SVT1VHUGXW. ISSN 1943-7722. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ajcp/article/136/4/527/1760476>

ROSSI, Mariarita, Cristina PELLEGRINI, Ludovica CARDELLI, Valeria CICIARELLI, Lucia DI NARDO a Maria Concetta FARGNOLI. Familial melanoma: diagnostic and management implications. *Dermatology Practical & Conceptual* [online]. 2019 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.5826/dpc.0901a03. ISSN 2160-9381. Dostupné z: <https://dpcj.org/index.php/dpc/article/view/dermatol-pract-concept-articleid-dp0901a03>

ROTHBERG, Jonathan M., Wolfgang HINZ, Todd M. REARICK, et al. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature* [online]. 2011, **475**(7356), 348-352 [cit. 2020-06-10]. DOI: 10.1038/nature10242. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nature10242>

ROTHBLUM-OVIATT, Cynthia, Jennifer WRIGHT, Maureen A. LEFTON-GREIF, Sharon A. MCGRATH-MORROW, Thomas O. CRAWFORD a Howard M. LEDERMAN. Ataxia telangiectasia: a review. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 2016, 11(1) [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.1186/s13023-016-0543-7. ISSN 1750-1172. Dostupné z: <http://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13023-016-0543-7>

SANGER, F., S. NICKLEN a A. R. COULSON. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1977, **74**(12), 5463-5467 [cit. 2020-06-20]. DOI: 10.1073/pnas.74.12.5463. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.74.12.5463>

SCHARF, Mark J. a Norman LEVINE. Pigmented Lesions. *Decision Making in Medicine* [online]. Elsevier, 2010, 2010, s. 112-115 [cit. 2020-04-07]. DOI: 10.1016/B978-0-323-04107-2.50040-5. ISBN 978-0-323-04107-2. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323041072500405>

SCHIEVING, J.H., M.H.D. SCHOENAKER, C.M. WEEMAES, M. VAN DEUREN, M. VAN DER FLIER, M.M. SEYGER a M.A.A.P. WILLEMSSEN. Telangiectasias: Small lesions referring to serious disorders. *European Journal of Paediatric Neurology* [online]. 2017, 21(6), 807-815 [cit. 2020-03-25]. DOI: 10.1016/j.ejpn.2017.07.016. ISSN 10903798. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090379816302331>

SCHOUTEN, J. P. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Research* [online]. **30**(12), 57e-57 [cit. 2020-06-03]. DOI: 10.1093/nar/gnf056. ISSN 13624962. Dostupné z: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gnf056>

SHIELDS, Carol L., Arman MASHAYEKHI, Angela K. AU, Craig CZYZ, Ann LEAHEY, Anna T. MEADOWS a Jerry A. SHIELDS. The International Classification of Retinoblastoma Predicts Chemoreduction Success. *Ophthalmology* [online]. 2006, 113(12), 2276-2280 [cit. 2020-03-09]. DOI: 10.1016/j.ophtha.2006.06.018. ISSN 01616420. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161642006008529>

SMITH, V V, C ENG a P J MILLA. Intestinal ganglioneuromatosis and multiple endocrine neoplasia type 2B: implications for treatment. *Gut* [online]. 1999, 45(1), 143-146 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1136/gut.45.1.143. ISSN 0017-5749. Dostupné z: <http://gut.bmj.com/cgi/doi/10.1136/gut.45.1.143>

STUPPIA, Liborio, Ivana ANTONUCCI, Giandomenico PALKA a Valentina GATTA. Use of the MLPA Assay in the Molecular Diagnosis of Gene Copy Number Alterations in Human Genetic Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2012, 13(3), 3245-3276 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.3390/ijms13033245. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/13/3/3245>

SYED, Fraz, Haiying GRUNENWALD a Nicholas CARUCCIO. Next-generation sequencing library preparation: simultaneous fragmentation and tagging using in vitro transposition. *Nature Methods* [online]. 2009, 6(11), i-ii [cit. 2020-05-20]. DOI: 10.1038/nmeth.f.272. ISSN 1548-7091. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nmeth.f.272>

ŠÍPEK, A. Typy dědičnosti v rodokmenu. In: *Genetika – Biologie* [online]. 2010-2014 [cit. 2019-03-28]. Dostupné z: <http://www.genetikabiologie.cz/typy-dedicnosti-v-rodokmenu>

ŠVOJGR, Karel. Retinoblastom. *Onkologie* [online]. 2016, 10(5), 215-217 [cit. 2020-06-22]. Dostupné z: <https://www.onkologiecs.cz/pdfs/xon/2016/05/03.pdf>

THE INTERNATIONAL NIJMEGEN BREAKAGE SYNDROME STUDY GROUP. Nijmegen breakage syndrome. *Archives of Disease in Childhood* [online]. 82(5), 400-406 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1136/adc.82.5.400. ISSN 00039888. Dostupné z: <http://adc.bmj.com/cgi/doi/10.1136/adc.82.5.400>

TRICARICO, Rossella, Francesca CRUCIANELLI, Antonio ALVAU, Claudio ORLANDO, Roberta SESTINI, Francesco TONELLI, Rosa VALANZANO a Maurizio GENUARDI. High resolution melting analysis for a rapid identification of heterozygous and homozygous sequence changes in the MUTYH gene. *BMC Cancer* [online]. 2011, 11(1) [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1186/1471-2407-11-305. ISSN 1471-2407. Dostupné z: <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-11-305>

UMAR, A., C. R. BOLAND, J. P. TERDIMAN, et al. Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* [online]. 2004, 96(4), 261-268 [cit. 2020-05-28]. DOI: 10.1093/jnci/djh034. ISSN 0027-8874. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djh034>

VASEN, H. F. A., J. -P. MECKLIN, P. MEERA KHAN a H. T. LYNCH. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Diseases of the Colon & Rectum* [online]. 1991, 34(5), 424-425 [cit. 2020-07-20]. DOI: 10.1007/BF02053699. ISSN 0012-3706. Dostupné z: <http://journals.lww.com/00003453-199134050-00015>

VASEN, H, P WATSON, J MECKLIN a H LYNCH. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroenterology* [online]. 1999, 116(6), 1453-1456 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70510-X. ISSN 00165085. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001650859970510X>

VOELKERDING, Karl V, Shale A DAMES a Jacob D DURTSCHI. Next-Generation Sequencing: From Basic Research to Diagnostics. *Clinical Chemistry* [online]. 2009, 55(4), 641-658 [cit. 2020-06-10]. DOI: 10.1373/clinchem.2008.112789. ISSN 0009-9147. Dostupné z: <https://academic.oup.com/clinchem/article/55/4/641/5629392>

WATSON, James D. *Molecular Biology of the Gene*. London: Pearson Education, 2013. ISBN 0321762436.

WELLS, Samuel A., Furio PACINI, Bruce G. ROBINSON a Massimo SANTORO. Multiple Endocrine Neoplasia Type 2 and Familial Medullary Thyroid Carcinoma: An Update. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2013, 98(8), 3149-3164 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1210/jc.2013-1204. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2013-1204>