

**Onkogenetika,
genetické poradenství
u hereditárních nádorových
onemocnění**

**Renata Gaillyová
LF MU 2009-2010**

*genetické souvislosti

*onkogenetická vyšetření
nádorů

* genetické vyšetření u
hereditárních a familiárních
nádorů

*presymptomatické testování

*preventivní programy

Nádorové onemocnění - genetické souvislosti

- 1-10% hereditární nádorová predispozice - germinální mutace v tumor supresorových či mismatch repair genech
- 10% familiární formy - kumulace nádorových onemocnění v rodině, není definován typ dědičnosti, vnímavé geny + zevní faktory
- 80-90% sporadická nádorová onemocnění

**Diagnostická a
prognostická vyšetření u
sporadických nádorových
onemocnění**

Genetická vyšetření nádorů

- upřesnění diagnosy
- upřesnění prognosy
- stanovení léčebné strategie
- monitorování úspěšnosti léčby
- sledování vývoje onemocnění
- monitorování minimální residuální choroby
- lokalizování protoonkogenů a tumor-supresorových genů
- vyšetření transplantátu před autologní transplantací

Chromozomové aberace u nádorů

- rozdělení

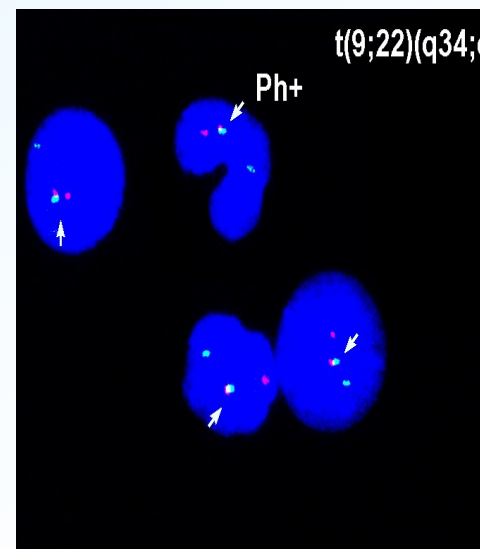
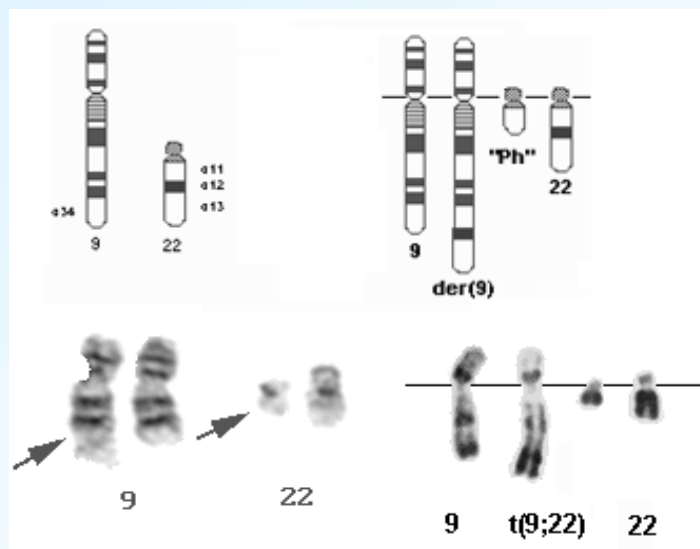
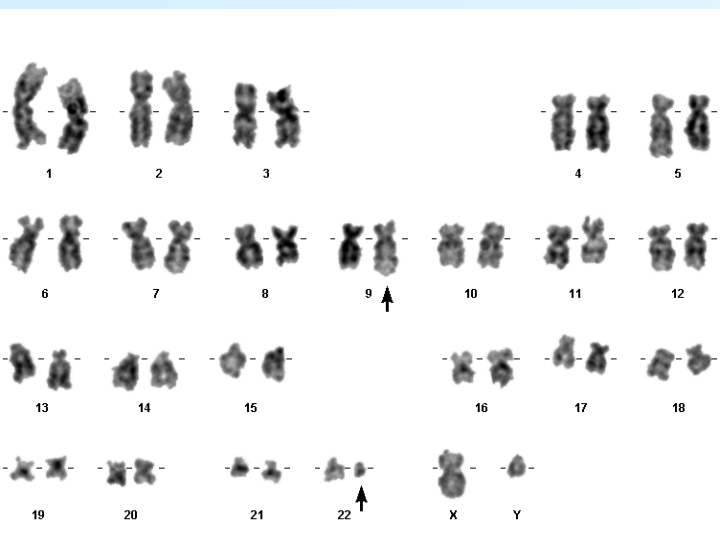
- **Primární** základní při vzniku nádorů, jediná změna, spouští mnohastupňový proces karcinogeneze
- **Sekundární** objevují se v průběhu onemocnění, obraz stadia choroby, výraz progresu tumoru, prognostický faktor progresu onemocnění
- **Specifické** pravidelně u určitého typu nádoru, představují specifický nádorový marker, v místech zlomu byly identifikovány geny, které jsou zúčastněné v nádorovém procesu
- **Nenáhodné** u určitého typu nádoru změny postihují vždy stejné chromozomy
- **Náhodné** vyskytují se náhodně, postihují různé chromozomy

Význam nádorové cytogenetiky

Početní a/nebo strukturní chromozomové aberace



specifické markery nádorových buněk s diagnostickým i prognostickým významem !



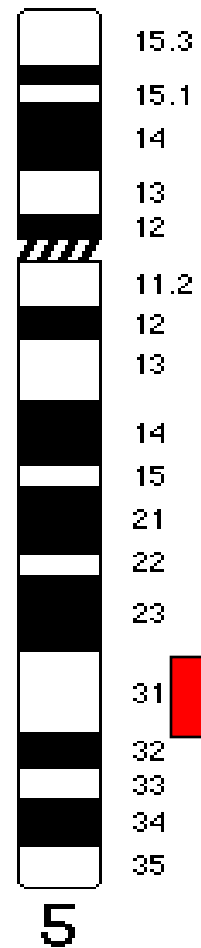
Filadelfský (Ph) chromozom u pacienta s
CML

Úloha cytogenetického vyšetření v onkohematologii

- nedílná součást všech onkohematologických vyšetření
- cytogenetické a molekulárně genetické metody používané v onkohematologii jsou součástí diagnostiky a léčby těchto malignit ve smyslu:
 - upřesnění diagnózy
 - stanovení léčebné strategie
 - monitorování léčby
 - sledování reziduální choroby po léčbě, transplantaci
 - předpověď pravděpodobného vývoje onemocnění
 - lokalizování protoonkogenů a tumor-supresorových genů

Důsledky chromozomových aberací v procesu karcinogeneze - delece

- ztráta části chromozomu, často postiženy nádorové-supresorové geny nebo geny pro stimulační a růstové faktory
- LOH- ztráta heterozygotnosti v důsledku delece genu
- u hematologických malignit specifické změny



Důsledky chromozomových aberací v procesu karcinogeneze - delece

del 5q - u AML a MDS, delece je intersticiální, rozsah velmi variabilní, vždy je postižen pruh 5q31 - kritická oblast, v oblasti zmapováno více genů řídících normální hematopoézu, předpokládá se přítomnost nádorového - supresorového genu

del 11q23 - u AML a ALL, v oblasti 11q23 mapován MLL gen, mimo delecí zúčastněn v početných translokacích (6q27, 9p21, 10p15, 17q11, 19p13)

monozomie - ztráta celých chromozomů, změny jsou spíše sekundární, častá monozomie 5, 7 u MDS

Důsledky chromozomových aberací v procesu karcinogeneze

Aberace se zmnoženým genetickým materiálem

Duplikace

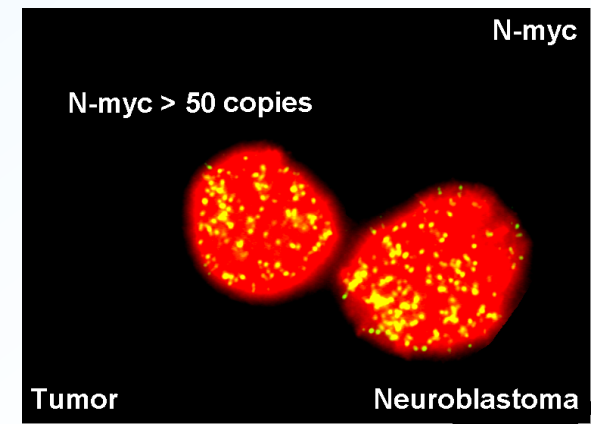
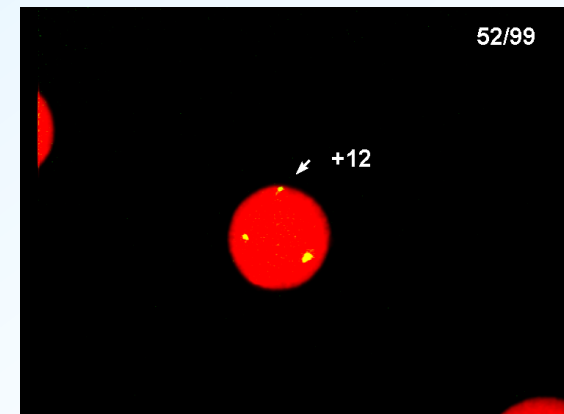
- celé chromozomy nebo jejich části
- časté sekundární změny v nádorových buňkách
- zmnožení genové dávky
- stav a progresse nádorového onemocnění
- u leukémií časté +8, u CLL specifická +12, další Ph

Důsledky chromozomových aberací v procesu karcinogeneze

Aberace se zmnoženým genetickým materiálem

Amplifikace

- časté u solidních nádorů, ale i u leukémií
- většinou zmnožení proto-onkogenů
- double minutes (d-min)
- vyšetření pomocí FISH, počet signálů v buňce
- vyšetření přítomnosti amplifikace má prognostický a terapeutický význam



Důsledky chromozomových aberací v procesu karcinogeneze

Translokace

- v místech zlomů identifikovány geny přímo zúčastněné v nádorovém procesu
- dva principiální důsledky translokací a inverzí:
 - místo zlomu uvnitř genů na každém chromozomu, přeskupením se vytvoří **fúzní gen**, kódující chimérický protein, zapojený do maligního procesu
 - gen pro T- buněčný receptor nebo gen pro imunoglobulinový protein se dostanou do blízkosti proto-onkogenu, jeho aktivací je ovlivněn růst, diferenciaci nebo apoptóza buňky

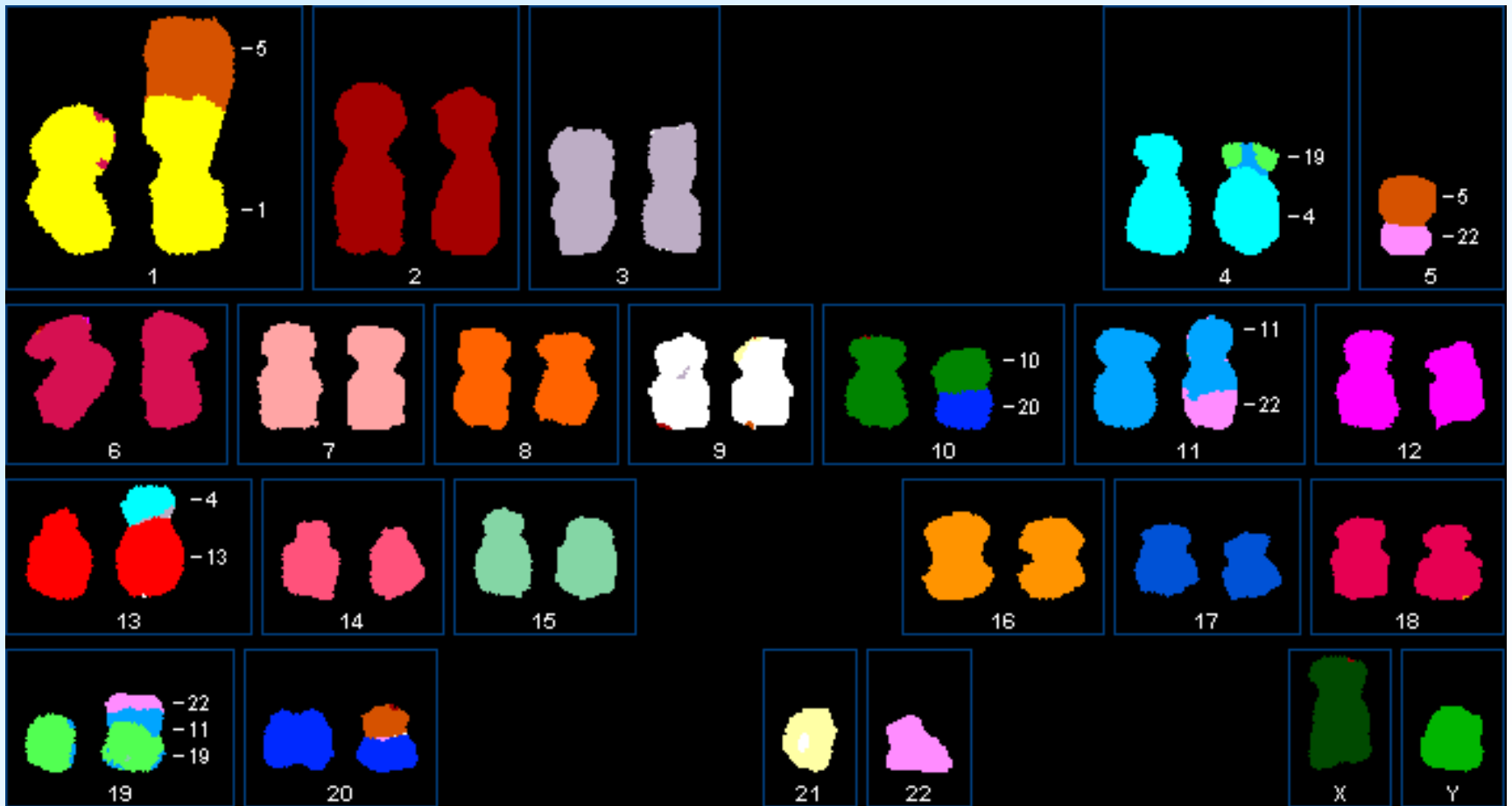
Úloha cytogenetického vyšetření v onkohematologii

- význam cytogenetického a molekulárně genetického vyšetření u hematologických malignit je zdůrazněn i v návrhu nové WHO klasifikace myeloidních nádorových chorob, jsou vyčleněny samostatné jednotky se specifickými genetickými změnami

SKY: t(2:13), t(4:8), t(6:16), t(8:11)

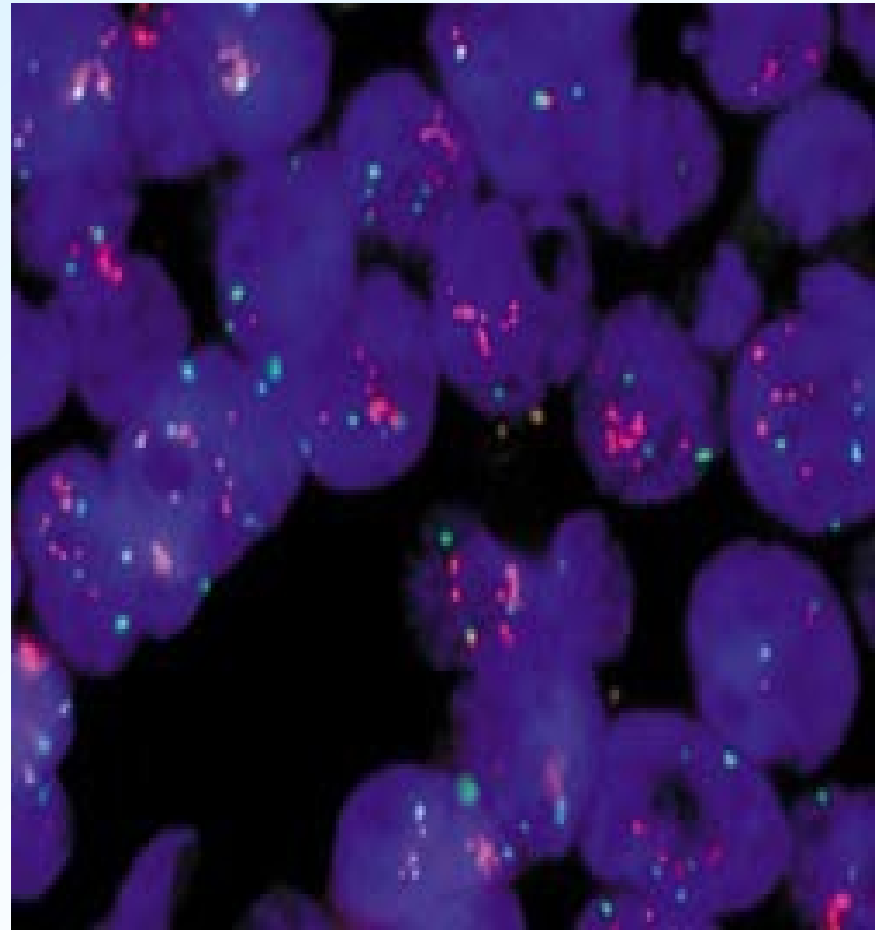


Detekce translokace $t(11;22)$ metodou SKY u pacienta s dg. Neuroblastoma. Tato translokace je specifická pro Ewingův sarcom. Výsledek SKY vedl ke změně diagnosy a léčby.

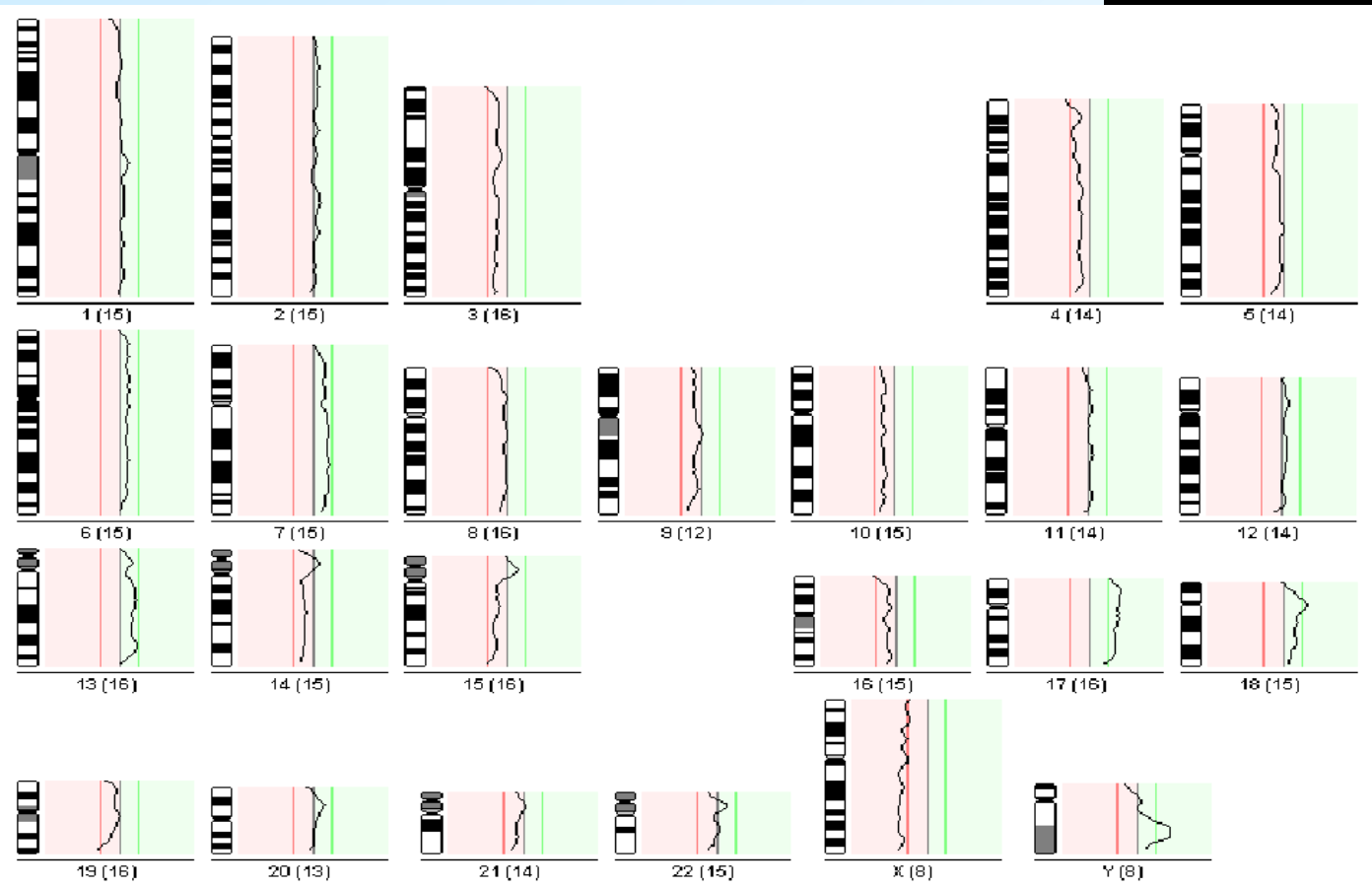
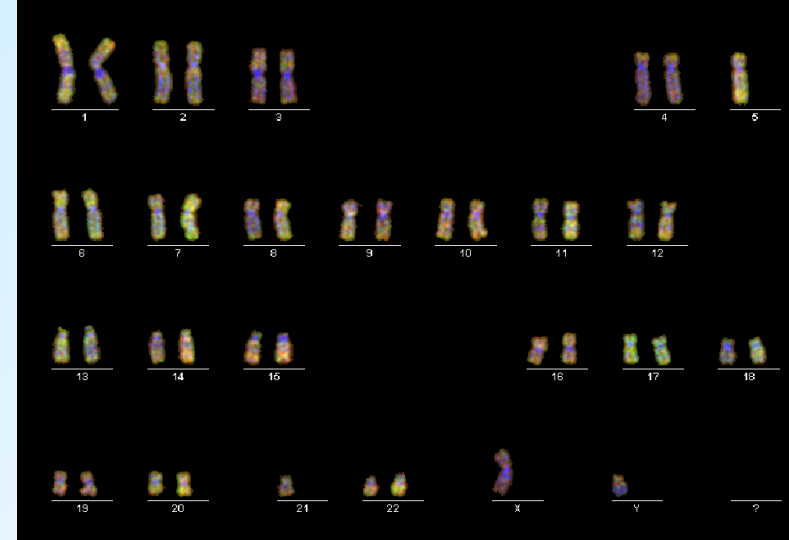


Stanovení amplifikace HER-2 genu u rakoviny prsu

- významný prognostický a terapeutický marker
- vyskytuje se u 25 - 30 % nádorů prsu
- amplifikace genu je spojena s nepříznivou prognózou (rychlá proliferace, zkrácená doba přežití)
- zvýšená citlivost na léčbu adriamycinem



CGH Neuroblastom

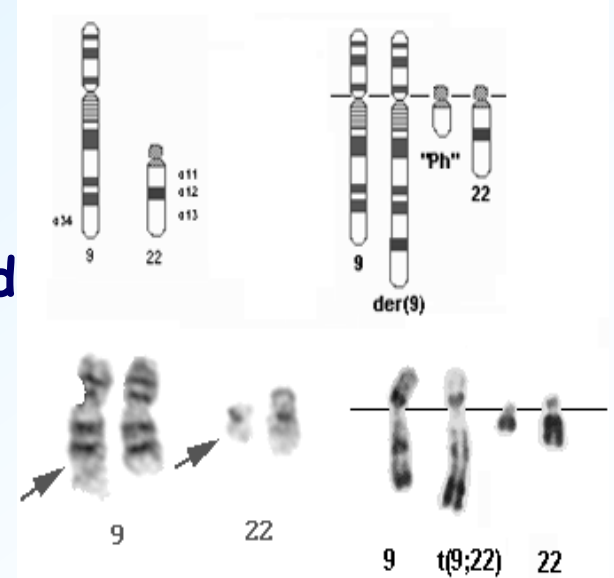


rev ish enh
(7,13,17,18)
rev ish dim
(3,4,14,15,X)

Chronická myeloidní leukemie (CML)

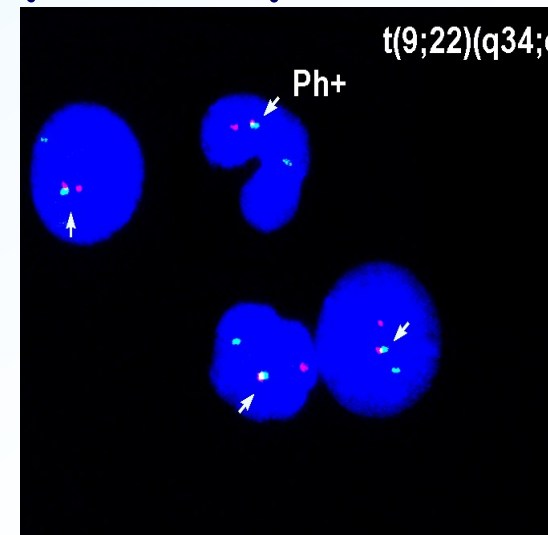
1/4 všech leukemií, 1 : 100 000

- 90-95% Ph pozitivní CML
 - Ph chromozom jako důsledek t(9;22)
- 5-10% Ph negativní CML - BCR/ABL pozitivní
 - asi 1/2 má přestavbu BCR/ABL, detekovaná molekulárně geneticky
 - morfologicky a klinicky neodlišitelná od Ph pozitivních CML
- BCR/ABL negativní
 - nemají detekovatelnou přestavbu BCR/ABL
 - morfologické a klinické odlišnosti od Ph pozitivních CML



Chronická myeloidní leukemie (CML)

- Ph obvykle přítomen ve 100% mitóz v době diagnózy, přítomen i v průběhu onemocnění
- nejlepší prognózu mají pacienti, kteří mají v době diagnózy Ph chromozom jako jedinou změnu
- v době diagnózy u některých nemocných kromě Ph další chromozómové změny, jejich výskyt je nepříznivý prognostický znak
- v době blastického zvratu až 70% nemocných má přídavné chromozomové změny, nejčastěji +8, duplikace Ph, +19, i(17q)
- FISH detegujeme přestavbu BCR/ABL, specifická sonda umožňuje vyšetřovat i interfázni jádra



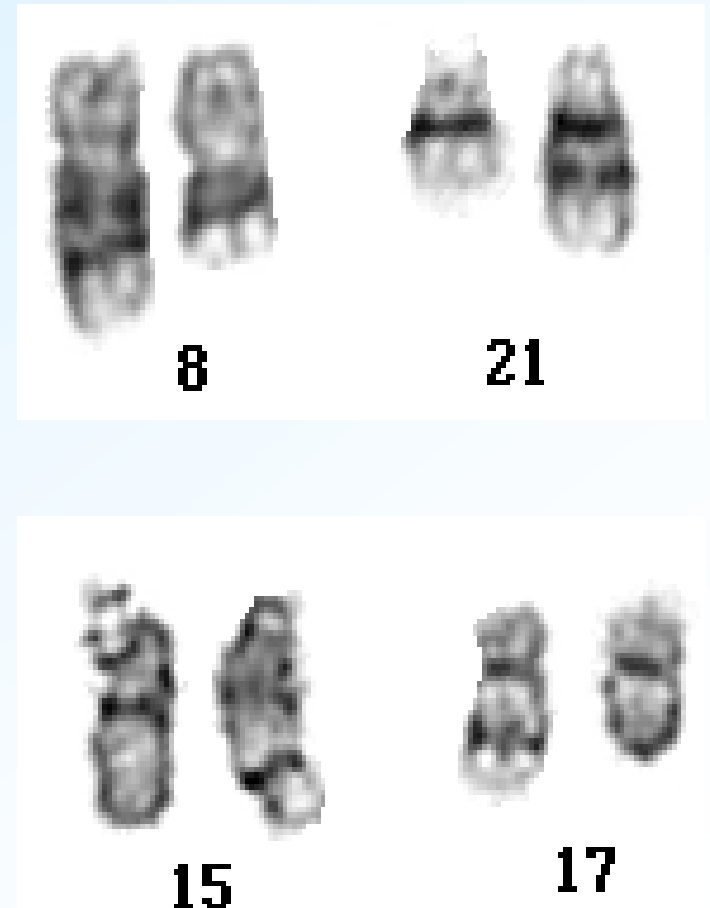
Akutní myeloidní leukemie (AML)

AML-M2 - t(8;21)

- mapované geny ETO, AML1
- především u mladších pacientů, často u dětí
- sekundární změny -Y, -X, 9q-, 7q-, +8
- dobrá prognóza

AML-M3 - t(15;17)

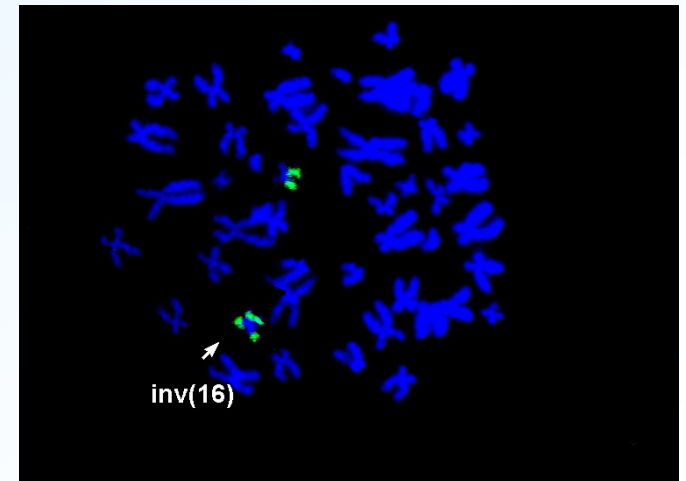
- mapované geny PML/RARA
- méně často variantní translokace
- nejčastější přídatnou změnou +8
- dobrá prognóza



Akutní myeloidní leukemie (AML)

**AML-M4eo-inv(16),
t(16;16)**

- fúzní gen CBF/MYH11
- asi 50% má přídatné změny
7q-, +8, +21
- spojená s dobrou prognózou
- detekce FISH pomocí
specifické sondy



Onkogenetická vyšetření - DNA/ RNA analýza

Autorské metodiky využívající
kvantitativní

real-time PCR :

Analýza exprese molekulárních
markerů neuroblastomu

- mRNA:
- tyrozin
- hydroxylázyneurotrofinových
receptorů TrkA, TrkB,
- TrkChTERT (telomerázová
reverzní transkriptáza)
- GD2 syntetázy

- mutační analýzy statusu genu
Rb1

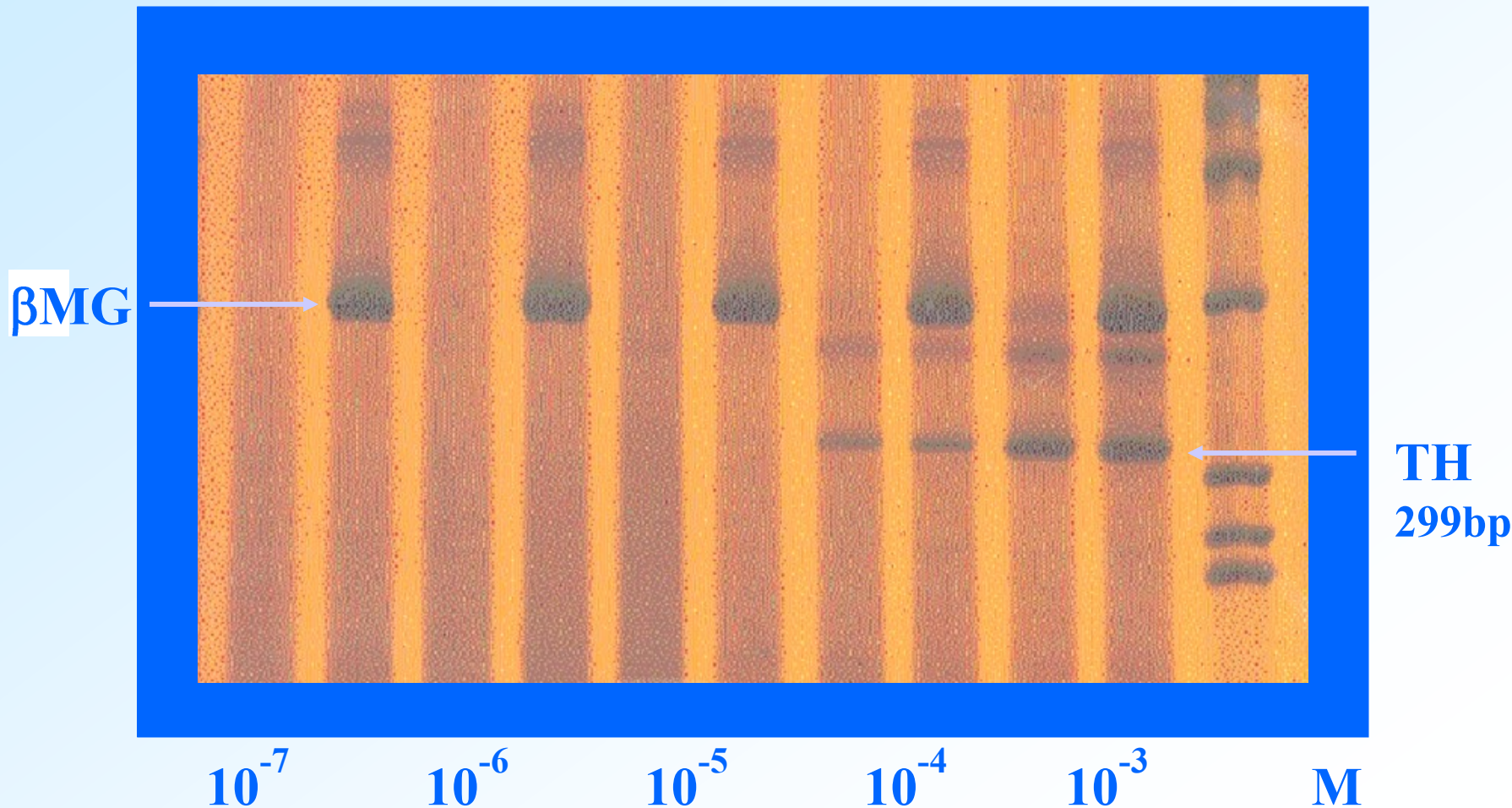


Onkogenetická vyšetření DNA/RNA analýza

Autorské metodiky využívající kvantitativní real-time PCR :

- Analýza exprese nádorových markerů meduloblastomu
 - mRNA:
 - C-myc
 - TrkC
- Analýza exprese nádorových antigenů
 - mRNA:
 - MAGE, GAGE
- Detekce fúzního genu SYT/SSX1 a SYT/SSX2 u Synovial sarkomu

Citlivost detekce TH



**Genetické poradenství a
genetická vyšetření u
hereditárních nádorových
onemocnění**

Familiární výskyt

- 2 a více případů v rodině u příbuzných 1. a 2. stupně
- výskyt v pozdějším věku
- nejasná dědičnost (náhodný výskyt, vliv zevního prostředí, genetické faktory - geny s nízkou penetrancí, polygenní dědičnost)

Suspekce na hereditární nádorovou predispozici

- 2 a více případů, příbuzní I. a II. stupně se stejným typem tumoru, obraz autosomálně dominantní dědičnosti
- neobvykle časný výskyt, kombinace určitých typů nádorů u blízkých příbuzných (ca prsu a ovaria, kolorektální ca a ca endometria), bilaterální výskyt v párových orgánech, synchronní či metachronní tumory, nádorové duplicity
- 2 členové rodiny s identickým vzácným tumorem (ca štítné žlázy)

Cíl genetického poradenství v rodinách se susp. hereditárním nádorovým onemocněním

- jedná se v rodině v.s. o hereditární nádorovou predispozici ?
(klíčem je genealogie - kolik příbuzných s nádorovým onemocněním, věk při dg.tumoru, typická kombinace nádorů)
- vytipovat osoby v riziku

Cíl genetického poradenství v rodinách s nádorovým onemocněním

- zajistit molekulárně genetické vyšetření (pokud je to možné)
- pokusit se určit osoby, které predispozici zdědily
- zajistit ve spolupráci s dalšími obory primární či sekundární prevenci pro rizikové osoby

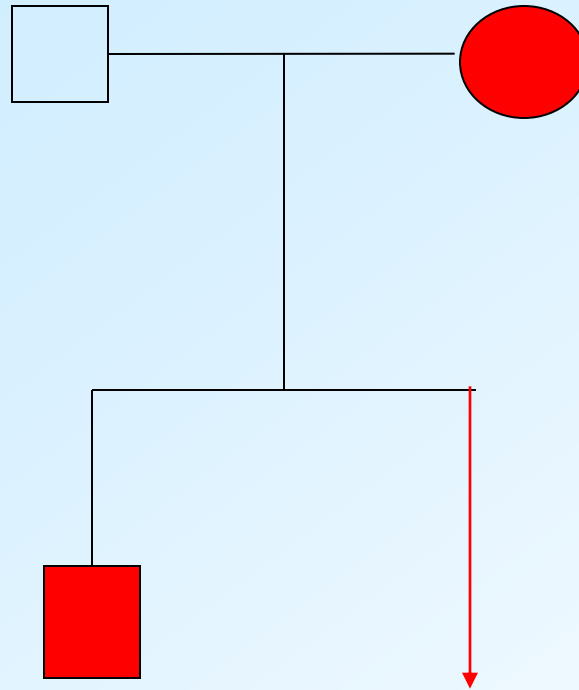
Molekulárně genetické vyšetření v ČR

(pouze u některých typů)

- Ca prsa a ovaria
- Lynchův syndrom (HNPCC)
- Familiární adenomatosní polyposa střevní
- Li Fraumeni syndrom - p53
- Von Hippel Lindau
- Mnohočetná endokrinní neoplasie I a II
- Retinoblastom - některé formy
- Neurofibromatosa

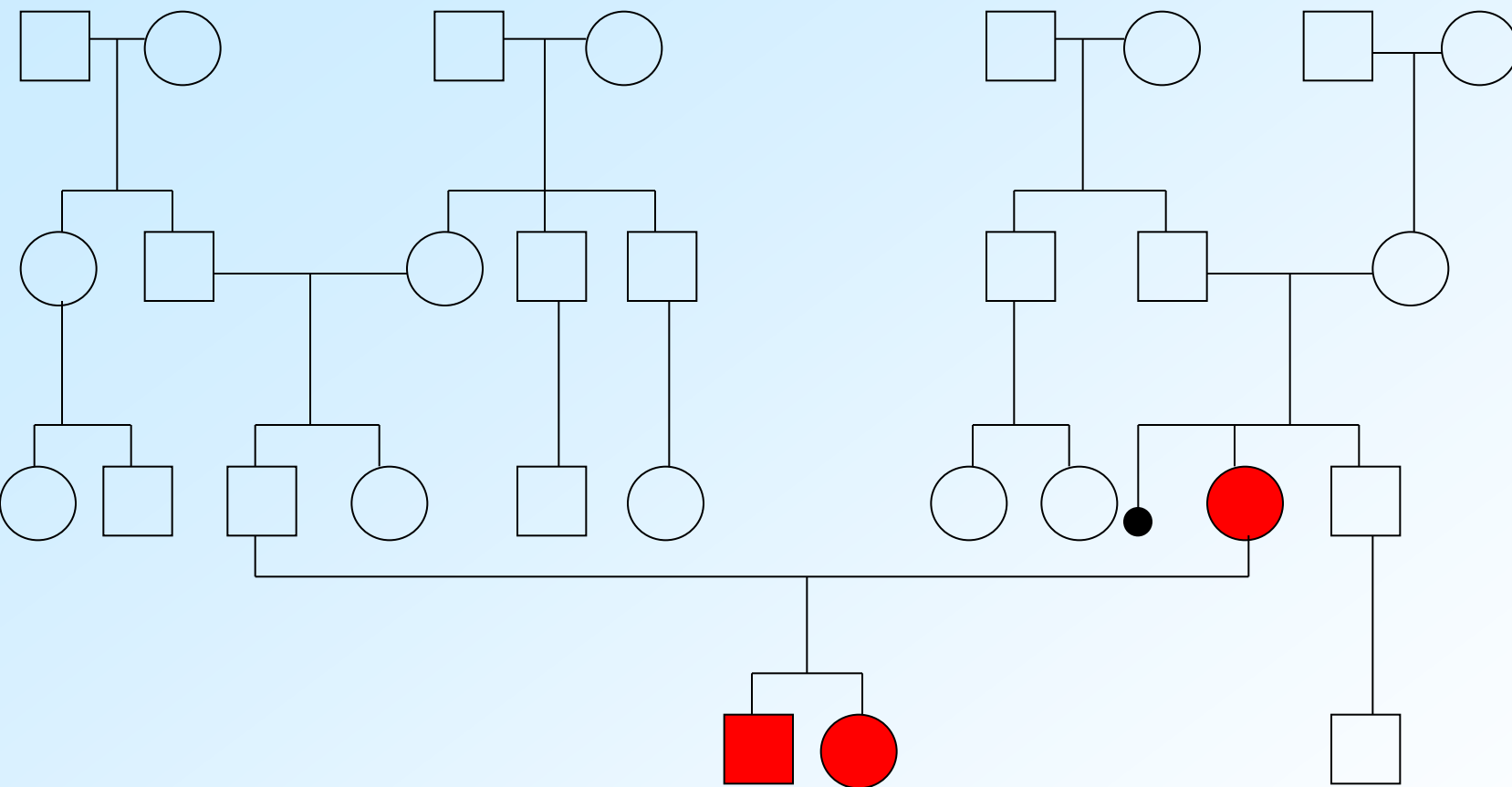
Retinoblastom

Enukleace v
kojeneckém
věku pro bilat.
Retinoblastom,
mutace v Rb1
genu



Retinoblastom,
chemoterapie,
mutace Rb1
genu

Prenatálně zjištěna
u plodu mutace Rb1
genu



**Gen RB1: IVS8+1G>A/non,
g.150038delG**

Rodokmen rodiny s výsktem hereditárního retinoblastiomu

Molekulárně genetické vyšetření

- k vyšetření je většinou nutná DNA od nemocného v rodině
- před vyšetřením vždy informovaný souhlas
- vyšetření by mělo být podmíněno genetickým poradenstvím
- od testování může pacient kdykoli odstoupit či odmítnout znát výsledek
- pokud není mutace u nemocného nalezena, neznamená to, že je hereditární forma v rodině vyloučena

Prediktivní testování

- prediktivní testování je většinou možné pouze při nálezů mutace v rodině
- provádí se většinou až od 18 let (výjimka, kde je možné a nutné nabídnout prevenci už v dětství - FAP, MEN, VHL, Rb, NF)
- genetická konzultace před testem - poučení o významu testování, následné informace, informovaný souhlas

Prediktivní testování

- genetická konzultace po testu - sdělení výsledku, vyplývajících rizik, možnosti prevence (sledování, operace, chemoprevence)
- předání kontaktu na pracoviště (odborné lékaře) zajišťující preventivní sledování, včetně psychologa
- vyšetření je zcela dobrovolné

Hereditární forma tu prsu/ovarií

- Asi 80% případů s hereditární formou je způsobeno zárodečnou mutací v genech BRCA 1 a 2
- Celoživotní riziko onemocnění pro nosiče mutace BRCA1 je 85% pro tu prsu, 60 % pro tu vaječníku, 4x zvýšené riziko pro tu kolorekta, 3x vyšší riziko pro tu prostaty
- BRCA2 - 85% tu prsu, 20% tu ovaria,

Lynchův syndrom

- AD dědičná forma tu kolorekta
- Malé množství polypů
- Častý výskyt metachronních a syndchronních tu
- Od roku 1992 objeveno 5 genů, které patří do skupiny mutátorových genů (MMR), opravujících chyby v DNA - MLH1 (3p21), MSH2 (2p16), MSH6 (2p16), PMS1 (2q31), PMS2 (7p22)
- Riziko tu kolorekta 75%
- Riziko tu endometria u žen 40-60%
- Zvýšené riziko tu ovaria, žaludku, tenkého střeva, močového a hepatobiliárního systému, mozku

Li Fraumeni syndrom

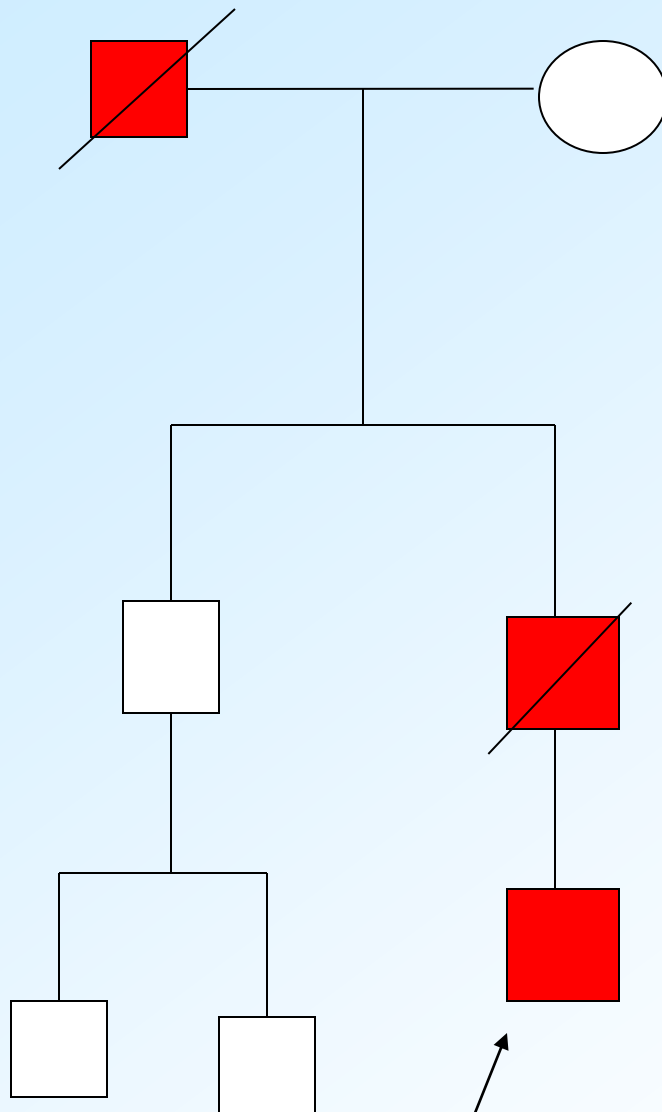
- AD dědičná dispozice k různým typům nádorů je u velké části případů způsobena zárodečnou mutací v p53 genu.
- V rodinách vysoké riziko leukemií, nádorů CNS, sarkomů, adrenokortikálních nádorů, nádorů prsu, některé tu se vyskytují již v dětském věku
- Komplexní onkologická prevence je nutná se zaměřením na známá rizika
- Testování p53 genu v rodinách je možné v dospělosti

Familární adenomatosní polypóza FAP

- AD dědičné onemocnění, zodpovídá za cca 1% kolorektálních karcinomů
- Gen APC (5q)
- Mnohočetné polypy v distální oblasti tlustého střeva a rekta již od dospívání, mohou být i v tenkém střevě a žaludku
- Může být zvýšené riziko jiných nádorů
- Screening od 10-12 let - sigmoidoskopie ročně, od 20 let kolonoskopie
- DNA vyšetření od dětství

47 let,
ca střeva
polypy

FAP



25 let
ca střeva

1989
větší množství polypů
od anu do sigmoidu -2002

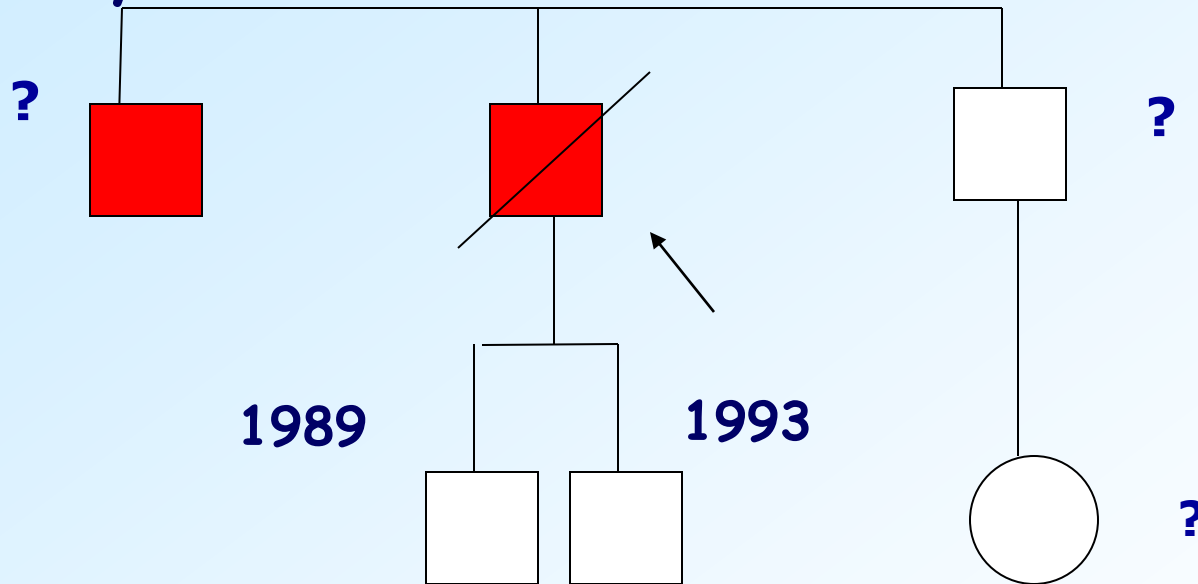
Von Hippel Lindau syndrom VHL

- AD dědičná systémová porucha vedoucí ke vzniku hemangioblastomů retiny, CNS a vysokému riziku vzniku nádorů ledvin, pheochromocytomů a nádorů slinivky
- VHL gen je tumor supresorový, lokalizace 3p
- Testování je u podezření na syndrom možné již od dětství

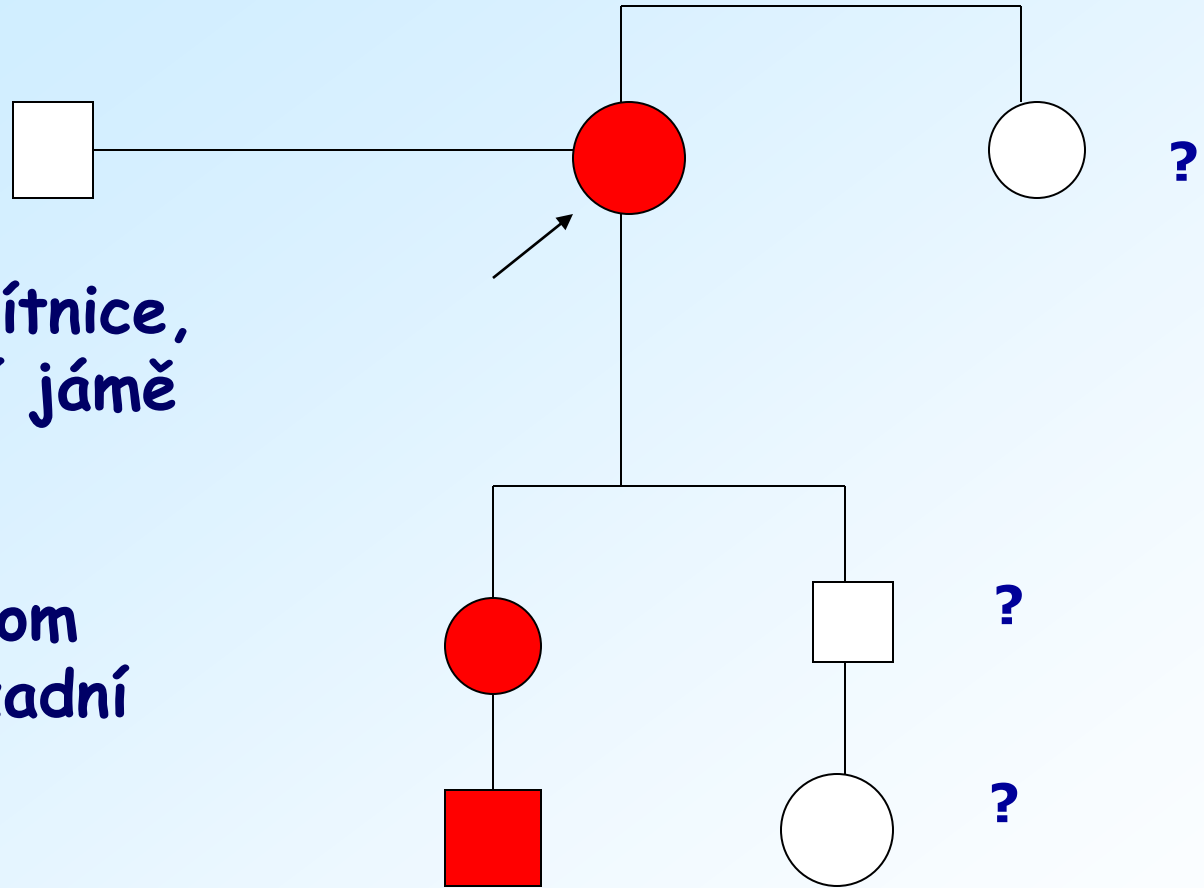
1964, amaurosis,
feochromocytom

1965-2002

tu mozečku, mozk, kmene,
bil. feochromocytom



Von Hippel Lindau , mutace $CGG(\text{Arg } 167)-CAG(\text{Gln})$ u otce, presymptomatický test vyloučil nosičství u synů



1977 hemang. sítnice,
 hemang. v zadní jámě
 lební,
 1997 Grawitz,
 intracer. hematom
 1998 hemang. zadní
 jámy

**Rodina s výskytem onemocnění VHL
 mutace CGG(Arg167)-TGG(Trp)**

Problémy

- **Etické**
- vzniku nádoru neumíme zabránit
- u nosičů celoživotní riziko vysoké
- u některých typů prevence obtížná (např. Li-Fraumeni syndrom)

Problémy

- **Psychologické**
- vyrovnání se s vysokým rizikem
- rozdělení rodiny na zdravé versus nemocné, nosiče mutace versus nenosiče
- **50% riziko přenosu na děti**

Problémy

- **Sociální**
- riziko diskriminace např. komerčních pojišťoven, zaměstnavatele
- nízká informovanost lékařské veřejnosti

Primární prevence

- omezit škodliviny - zákaz kouření, minimálně alkohol, u GIT zákaz alkoholu
- strava s omezením tuků, masa, kořeněných jídel, uzenin
- dostatek vlákniny, minimálně 4 -5 dávek ovoce a zeleniny denně
- prevence stresu
- prevence nadměrného slunění
- pravidelná fyzická aktivita

Prekoncepční poradenství u léčených pacientů

- Plánování těhotenství
- Získané chromosomové aberace
- Rizikové těhotenství
- Prenatální sledování event.
diagnostika
- Kryokonzervace gamet
- Asistovaná reprodukce

Děkuji za pozornost



gaillyova@fnbrno.cz

foretova@mou.cz