



Doporučení pro klinickou péči o pacienty s Fanconiho anémií

Páté vydání 2020



**FANCONI ANEMIA
RESEARCH FUND**
Advancing Research. Supporting Families.

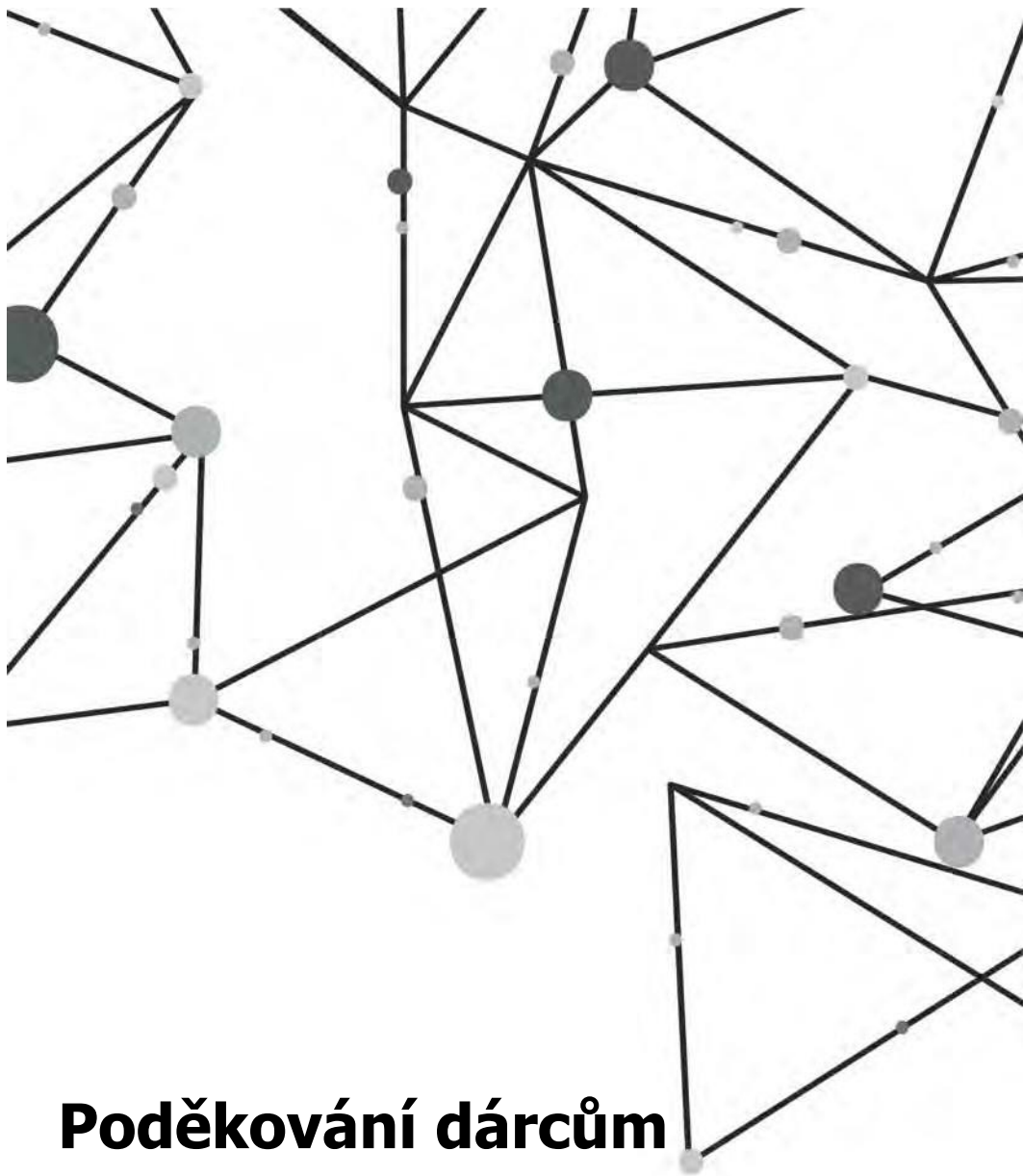


Doporučení pro klinickou péči o pacienty s Fanconiho anémií

Páté vydání 2020



**FANCONI ANEMIA
RESEARCH FUND**
Advancing Research. Supporting Families.



Poděkování dárčům

Děkujeme všem štedrým dárčům Fondu pro výzkum Fanconiho anémie, díky nimž mohla tato publikace vzniknout.

Upozornění:

Informace o lécích, léčebných postupech nebo výrobcích uvedené v této publikaci nelze považovat za lékařské pokyny ani vědecké doporučení. Než podniknete jakékoli kroky na základě těchto informací, vždy se poraďte se svým lékařem.

Copyright 1999; druhé vydání 2003; třetí vydání 2008, čtvrté vydání 2014; páté vydání 2020

Doporučení pro klinickou péči o pacienty s Fanconiho anémií

Páté vydání 2020

Šéfredaktorka: Isis Sroka, PhD, vědecká ředitelka FARF
Redakce: Lynn Frohnmayer, MSW, spoluzakladatelka FARF
Sherri Van Ravenhorst, MS, ředitelka pro komunikaci FARF
Leanne Wirkkula, PhD (Tn Consulting)

Zvláštní poděkování patří všem, kdo věnovali svůj čas a odborné znalosti, aby pomohli při vypracování těchto doporučení. Úplný seznam přispěvatelů najdete na konci této knihy.

Tato doporučení jsou zveřejněna na našich webových stránkách www.fanconi.org a na vyžádání jsou k dispozici v tištěné podobě (e-mail info@fanconi.org).

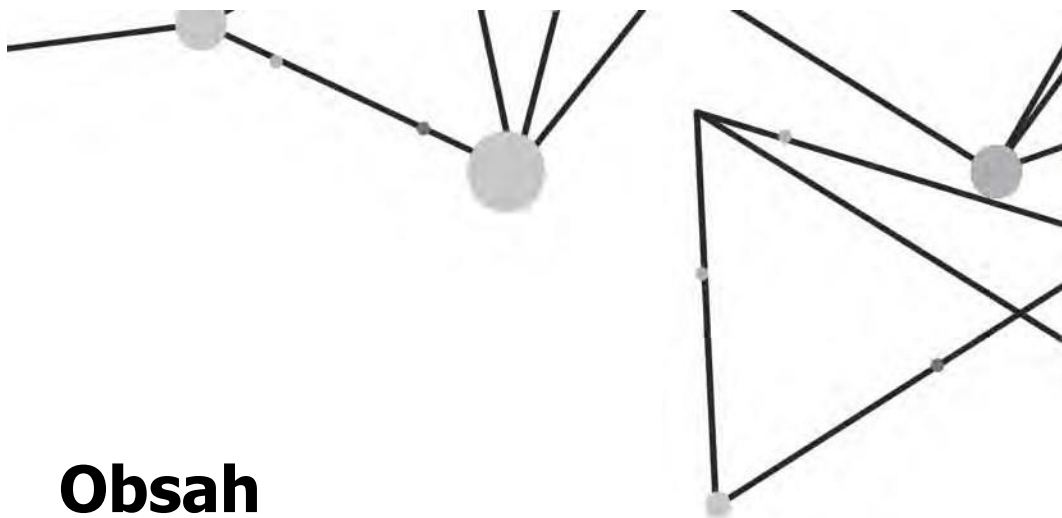
Materiály z této publikace mohou být přetištěny se souhlasem Fondu pro výzkum Fanconiho anémie.

O Fondu pro výzkum Fanconiho anémie

Fond pro výzkum Fanconiho anémie (Fanconi Anemia Research Fund, FARF) je světovým lídrem v oblasti výzkumu zaměřeného na vývoj lepších léčebných postupů a nalezení léčby Fanconiho anémie (FA). FARF byl založen v roce 1989 rodiči Lynn a Davidem Frohnmayerovými a jeho posláním je hledat účinnější způsoby léčby a lék na Fanconiho anémii a poskytovat osvětu a podpůrné služby postiženým rodinám z celého světa. Za tímto účelem poskytl FARF od roku 2020 více než 245 grantů 67 institucím a 163 výzkumným pracovníkům po celém světě. Díky našim štedrým a oddaným dárcům poskytl FARF výzkumné granty v celkové výši přes 25 milionů dolarů.

Fanconi Anemia Research Fund
360 E. 10th Avenue, Suite 201
Eugene, OR 97401

www.fanconi.org
541.687.4658
info@fanconi.org



Obsah

Předmluva	6
Kapitola 1 Opravná dráha DNA u Fanconiho anémie.....	9
Kapitola 2 Diagnóza Fanconiho anémie: Testování a genetické poradenství	21
Kapitola 3 Klinická péče o pacienty s Fanconiho anémií: Hematologické problémy	53
Kapitola 4 Solidní nádory jiné než HNSCC u pacientů s Fanconiho anémií	79
Kapitola 5 Rakovina hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií.....	89
Kapitola 6 Péče o ústní dutinu u pacientů s Fanconiho anémií.....	107
Kapitola 7 Gynekologická péče o pacientky s Fanconiho anémií	119
Kapitola 8 Dermatologické problémy u pacientů s Fanconiho anémií	139
Kapitola 9 Klinická péče o pacienty s Fanconiho anémií: Gastrointestinální problémy	147
Kapitola 10 Endokrinní poruchy u pacientů s Fanconiho anémií ..	165
Kapitola 11 Problémy se sluchem a sluchovým aparátem u pacientů s Fanconiho anémií.....	189
Kapitola 12 Klinická péče o abnormality rukou a paží u pacientů s Fanconiho anémií	199
Kapitola 13 Stručný průvodce klinickou péčí o pacienty s s Fanconiho anémií	225

Příloha A Slovník pojmů a seznam zkratk	239
Rejstřík.....	257
Zvláštní poděkování.....	263

Předmluva

Fanconiho anémie (FA) je vzácné onemocnění způsobené patogenními variantami v nejméně 23 genech, které vedou k poruchám opravy DNA ve všech buňkách těla. Fanconiho anémie je multisystémové onemocnění a její klinické projevy se značně liší; z toho vyplývající složitost proto vyžaduje komplexní a interdisciplinární přístup ke klinické péči. V roce 1999 vydal Fond pro výzkum Fanconiho anémie první vydání příručky pro klinickou péči určené pro osoby postižené touto nemocí a jejich rodiny. Tento průvodce byl vypracován lékaři specializujícími se na FA s cílem poskytnout informace zdravotnickým pracovníkům, kteří mají o tomto vzácném onemocnění omezené znalosti. Od prvního vydání z roku 1999 vydal Fond pro výzkum Fanconiho anémie další tři vydání, a to v letech 2003, 2008 a 2014.

Páté vydání s názvem Doporučení pro klinickou péči o pacienty s Fanconiho anémií (*Fanconi Anemia Clinical Care Guidelines*) je revidovanou verzí čtvrtého vydání z roku 2014. Autoři, kteří se na této publikaci podíleli, jsou lékaři nebo odborníci v oblasti klinické péče se zkušenostmi s léčbou pacientů s FA. Páté vydání přináší doporučení založená na důkazech z publikované recenzované lékařské literatury a je určeno především lékařům. Kapitoly prošly, pokud to bylo možné, recenzním řízením a bylo vynaloženo úsilí o to, aby poskytovaly vyvážený pohled na rozporuplné lékařské názory.

Páté vydání začíná stručným shrnutím molekulárních mechanismů opravné dráhy FA pro opravu DNA (kapitola 1). V uplynulých několika desetiletích vědci zmapovali složitost opravné dráhy FA v naději, že odhalení mechanismů, které vedou k chybné opravě DNA v buňkách postižených FA, umožní vývoj nových způsobů léčby tohoto onemocnění. Ačkoli výzkum signální dráhy FA rozšířil naše znalosti o koordinovaných procesech, které vedou ke křehkosti buněk u FA, je zapotřebí dalšího výzkumu, abychom získali ucelený přehled o tom, jak lze cílené působení na tuto signální dráhu využít k léčbě klinických projevů FA.

Kromě přehledu o dráze FA se páté vydání zabývá také procesem diagnostického testování FA (kapitola 2). Test na chromozomální zlomy zůstává

zlatým standardem diagnostiky FA; molekulární diagnostika, jako je celogenomové nebo celoexomové sekvenování, se však rychle stává důležitou součástí diagnostického postupu. V kapitole 2 se rovněž zabýváme způsoby dědičnosti FA, genetickým testováním členů rodiny a aktuálními informacemi o riziku vzniku rakoviny u nosičů variant FA.

Sledování projevů selhání kostní dřeně (BMF) u osob s FA a doporučení ohledně léčby v případě jeho vzniku jsou popsány v kapitole 3. V současnosti je transplantace hematopoetických buněk (HCT) jedinou možností kurativní léčby BMF u osob s FA. Páté vydání přináší přehled nejnovějších pokroků v oblasti HCT, které byly publikovány v recenzovaných vědeckých studiích. Díky pokrokům v protokolech HCT a v dlouhodobé péči se míra přežití osob s FA po HCT neustále zvyšuje. Navzdory těmto pokrokům zůstává významným problémem vysoké riziko vzniku dlaždicobuněčného karcinomu (SCC) u osob, které podstoupily transplantaci hematopoetických buněk (HCT). Vznik reakce štěpu proti hostiteli související s transplantací hematopoetických buněk je spojen se zvýšeným rizikem; není však jasné, zda toto riziko zvyšují rovněž i další faktory spojené s procesem transplantace hematopoetických buněk. Předpokládá se, že ke zvýšenému riziku může přispívat použití genotoxických chemoterapeutických a radioterapeutických režimů, k upřesnění konkrétních aspektů jednotlivých přispívajících faktorů jsou však zapotřebí další studie. Fond pro výzkum Fanconiho anémie v současné době podporuje probíhající preklinický výzkum zaměřený na využití deplece kmenových buněk pomocí profilátok jako způsobu, jak zmírnit toxické přípravné režimy. Výsledky těchto studií mohou nabídnout nový způsob provádění HCT, který snižuje riziko SCC. Probíhají také klinické studie genové terapie jako metody léčby BMF u pacientů s FA; je však ještě příliš brzy na to, abychom mohli posoudit, zda budou tyto studie úspěšné.

U osob s FA je mimořádně vysoké riziko vzniku dlaždicobuněčného karcinomu hlavy a krku (HNSCC) a dlaždicobuněčného karcinomu (SCC) v anogenitální oblasti. Existuje také zvýšené riziko vzniku solidních nádorů jiných než HNSCC v jiných částech těla (kapitola 4). Riziko vzniku solidních nádorů závisí na věku a souvisí s podstoupením HCT, je však vysoké i u pacientů, kteří HCT nikdy nepodstoupili. Většina nádorů jiných než HNSCC a HNSCC se u pacientů s FA objevuje v podstatně mladším věku než u obecné populace (20–50 let oproti 60–70 letům). Kapitoly 5 a 7 se zabývají aktualizovanými doporučeními pro včasnou diagnostiku, prevenci a léčbu HNSCC, respektive anogenitálního SCC u pacientů s FA.

Novinkou v pátém vydání je doporučení provést komplexní vyšetření ústní dutiny v kombinaci s kartáčkovou biopsií suspektních lézí HNSCC (kapitola 5), aby se zjistilo, zda přítomnost prekancerózních nebo nádorových lézí vyžaduje další vyšetření formou incizní biopsie. U osob s FA se často vyskytuje více lézí v ústní dutině a využití kartáčkových biopsií jako nástroje včasného sledování snižuje traumatizaci

a vede k včasné diagnostice rakoviny v době, kdy je ještě možné úspěšné chirurgické odstranění. Chirurgické odstranění nádorů, ať už jde o HNSCC nebo anogenitální SCC, zůstává nejlepší možností kurativní léčby u osob s FA, ačkoli se v některých případech osvědčila jako účinná i radioterapie. Je zapotřebí dalšího výzkumu, abychom porozuměli přirozenému průběhu vzniku nádorů SCC u FA a mohli tak vyvinout chemopreventivní nebo negenotoxické léčebné postupy. Hledání způsobů prevence a léčby nádorů typu SCC u pacientů s FA bude v nadcházejících letech jednou z hlavních priorit Fondu pro výzkum Fanconiho anémie.

Fanconiho anémie je multisystémové onemocnění a hematologické projevy a rakovina nejsou jedinými problémy, s nimiž se pacienti s FA potýkají. Komplexní péče o pacienty s FA vyžaduje interdisciplinární tým, který se soustředí na všechny orgánové systémy současně. Páté vydání obsahuje doporučení týkající se optimální péče o zdraví ústní dutiny (kapitola 6), gynekologické péče a neplodnosti (kapitola 7), dermatologických problémů (kapitola 8) a gastrointestinálních a endokrinních problémů (kapitoly 9 a 10). Zahrnuto je také odborné stanovisko k tomu, jak řešit problémy se sluchem (kapitola 11) a kostní anomálie (kapitola 12).

Závěrečná kapitola (kapitola 13) přináší stručný přehled doporučení ohledně péče, o nichž se hovoří v ostatních kapitolách. Tato kapitola rovněž obsahuje aktuální doporučení ohledně péče o dospělé pacienty s FA. Díky pokrokům v HCT se lidé s FA dožívají vyššího věku a u dospělých je tato nemoc diagnostikována stále častěji. V nadcházejících letech se Fond pro výzkum Fanconiho anémie zaměří na doplňování chybějících informací týkajících se přechodu od pediatrické péče k péči pro dospělé a na konkrétní doporučení ohledně celé řady problémů, s nimiž se dospělí s FA potýkají.

Od roku 2021 budou Doporučení pro klinickou péči o pacienty s Fanconiho anémií a všechny jejich následné revize k dispozici na webových stránkách Fondu pro výzkum Fanconiho anémie v interaktivním formátu.

Virtuální průvodce zdroji umožní rychlé začlenění recenzovaných aktualizací doporučení pro klinickou péči. Informace ohledně FA se rychle mění a je naprosto nezbytné zajistit včasný přístup k aktuálním doporučením. Tištěná vydání obsahu z webových stránek budou vydávána každých pět let.

Jménem Fondu pro výzkum Fanconiho anémie bychom rádi vyjádřili upřímné poděkování četným autorům, kteří se podíleli na přípravě pátého vydání Doporučení pro klinickou péči o pacienty s Fanconiho anémií. Rovněž bychom rádi vyjádřili upřímné poděkování pacientům s FA a jejich rodinám, bez nichž by tato publikace nemohla vzniknout. Doufáme, že tento průvodce bude cenným zdrojem informací pro lékaře, kteří ošetřují pacienty s FA, a že v konečném důsledku přispěje k prodloužení života a ke zlepšení kvality života lidí postižených touto nemocí.

Isis Sroka, PhD vědecká
ředitelka
Fanconi Anemia Research Fund

Lynn Frohnmayer, spoluzakladatelka
MSW
Fanconi Anemia Research Fund

Kapitola 1

Opravná dráha DNA u Fanconiho anémie

Úvod

Objevování genů způsobujících Fanconiho anémii (FA) a role proteinů FA při regulaci oprav DNA patří již posledních 30 let k aktivním oblastem výzkumu. V posledním vydání pokynů pro klinickou péči, které Fond pro výzkum Fanconiho anémie zveřejnil v roce 2014, bylo identifikováno 16 genů způsobujících Fanconiho anémii. Vědci nyní identifikovali 23 genů, jejichž mutace způsobují FA, mezi něž patří *FANCA* [1], *FANCB* [2], *FANCC* [3], *FANCD1/BRCA2* [4], *FANCD2* [5], *FANCE* [6], *FANCF* [7], *FANCG* [8], *FANCI* [9-11], *FANCI/BRIP1* [12], *FANCL* [13], *FANCM* [14-17], *FANCN/PALB2* [18], *FANCO/RAD51C* [19, 20], *FANCP/SLX4* [21, 22], *FANCO/ERCC4* [23], *FANCR/RAD51* [24, 25], *FANCS/BRCA1* [26], *FANCT/UBE2T* [27-29], *FANCU/XRCC2* [30], *FANCV/REV7* [31], *FANCW/RFWD3* [32] a *FANCY/FAP100* [33].

Fanconiho anémie je multisystémové onemocnění způsobené poruchami schopnosti buněk opravovat poškozenou DNA. Buňky pacientů s FA nejsou schopny opravit mezivláknové křížové vazby (ICL) v DNA, což jsou vady, které kovalentně spojují dvě vlákna DNA a brání nezbytným buněčným procesům, jako jsou replikace a transkripce DNA. Tato kapitola přináší stručný přehled nejnovějších poznatků z výzkumu molekulárních mechanismů opravné dráhy FA pro DNA. Dále se zabýváme souvislostí mezi opravnou dráhou FA pro DNA a toxiny, jako jsou aldehydy, a selháním kmenových buněk. Tuto kapitolu nelze považovat za úplný přehled veškerého dosavadního výzkumu týkajícího se této signální a opravné dráhy, který byl dosud publikován. Čtenářům doporučujeme, aby si pro získání dalších podrobností prostudovali zdroje a přehledové články citované v této kapitole.

Opravná dráha DNA u Fanconiho anémie

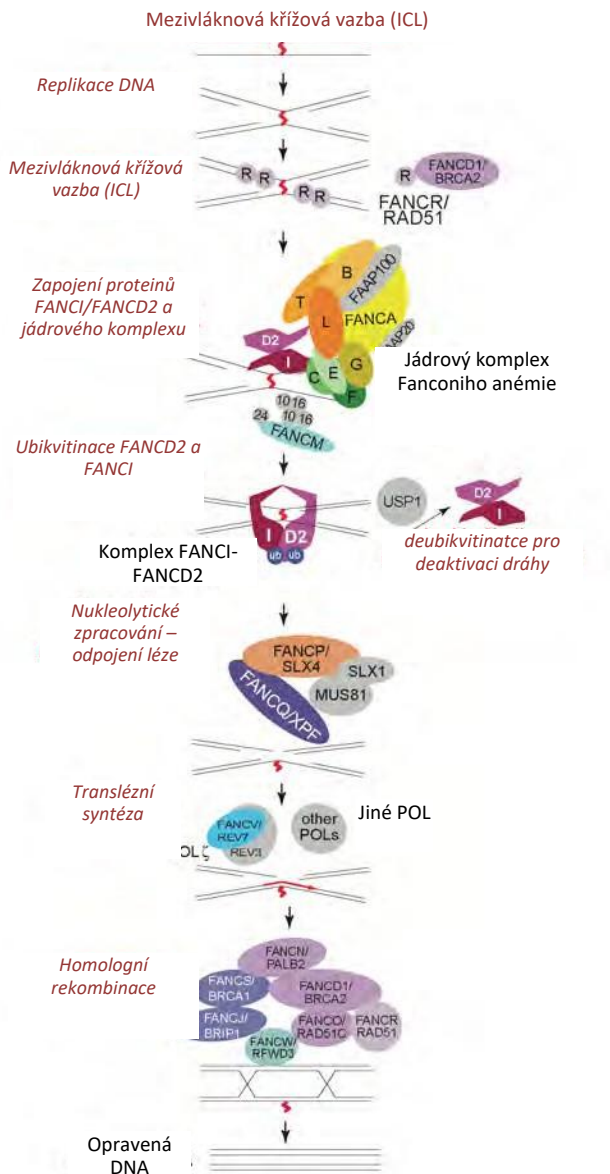
Proteiny spojené s Fanconiho anémií (FA) se podílejí na koordinovaném souboru procesů, které vedou k opravě mezivláknových křížových vazeb (ICL), když je během replikace DNA aktivována opravná dráha FA (obrázek 1, přehled v [34–36]). Klíčovým krokem opravné dráhy DNA u FA je monoubikvitinace proteinů FANCI a FANCD2 (běžně označovaných jako komplex I-D2 nebo D2-I) [5, 9–11, 37, 38]. Monoubikvitinace komplexu I-D2 závisí na FANCL, E3 ubikvitin-ligáze, která spolupracuje s FANCT/UBE2T, E2 ubikvitin-konjugačním enzymem [27–29, 39]. FANCL je součástí komplexu složeného z více podjednotek, který je označován jako jadrový komplex FA. Jadrový komplex zahrnuje FANCA, FANCB, FANCC, FANCE, FANCF, FANCG, FANCL a proteiny související s FA (FAAP) FAAP20 a FAAP100 [40–42]. Nedostatek kterékoli z podjednotek jadrového komplexu vede k FA [1–3, 6–8, 13]. FANCM se váže na jadrový komplex FA společně s FAAP24, avšak jeho absence snižuje ubikvitinaci FANCI a FANCD2 pouze částečně [43, 44] a pacienti s biallelickými mutacemi v genu FANCM vykazují odlišný klinický obraz než většina pacientů s FA (viz kapitola 2) [16, 17, 45, 46]. Předpokládá se, že FANCM se podílí na aktivaci dráhy FA tím, že lokalizuje jadrový komplex do chromatinu, a také prostřednictvím své role při aktivaci proteinu ATR (ataxia telangiectasia and Rad3-related), kinázy reagující na poškození DNA, která fosforyluje řadu proteinů dráhy FA [47]. Bylo rovněž prokázáno, že FANCM je nezbytný pro ranou fázi opravy ICL, kde podporuje přeskočení či „obcházení“ místa poškození ICL replikačním aparátem [48, 49].

Jadrový komplex FA je nezbytný pro aktivaci jeho katalytické podjednotky FANCL a také pro umístění jeho dvou substrátů, FANCI a FANCD2, do správné polohy pro mono-ubikvitinaci [50, 51]. Mono-ubikvitinovaný komplex I-D2 se stabilně lokalizuje k poškozeným místům obklopením DNA [52, 53]. Předpokládá se, že

monoubiquitinované FANCI a FANCD2 usnadňují následné opravné procesy, jako je střih DNA a oprava přerušené DNA [54, 55]. FANCDQ/XPF je klíčová nukleáza, která provádí řezy kolem léze; tento krok rozpojení se nazývá „unhooking“ [23, 56]. Aktivita uvolňování XPF v tomto kroku závisí na FANCP/SLX4, proteinové kostře pro tři nukleázy [21, 22, 56–60]. Jakmile dojde k uvolnění léze, specializovaná polymeráza Pol ζ , která se aktivuje v oblasti léze a jejíž součástí je FANCV/REV7 [31, 54], syntetizuje DNA napříč uvolněnou lézí a vytváří tak substrát pro proteiny homologní rekombinace (HR). FANCD1/BRCA2, FANCI/BRIP1, FANCN/PALB2, FANCO/RAD51C, FANCR/RAD51, FANCS/BRCA1, FANCU/XRCC2 a FANCW/RFWD3 jsou proteiny, které se podílejí na HR nebo ji regulují během opravy ICL [4, 12, 18, 19, 24, 26, 30, 32, 61–64]. Některé z HR proteinů, FANCR/RAD51 a FANCD1/BRCA2, působí také v ranějších fázích opravy a chrání DNA v ICL před nepatřičnou degradací komplexem sestávajícím z nukleázy DNA2 a ATP-závislé helikázy Wernerova syndromu (WRN) [24, 64]. Je rovněž důležité poznamenat, že výše uvedené proteiny podílející se na homologní rekombinaci se účastní opravy dvouřetězcových zlomů DNA během replikace DNA a představují v buňce významné tumor-supresorové proteiny (přehled v [65]). Jakmile je oprava ICL dokončena, je tento proces deaktivován deubikvitinujícím enzymem, ubikvitin-specifickou peptidázou 1 (USP1) [66].

Kromě účasti na opravě ICL jsou proteiny FA aktivní také na jiných místech genomu během replikace DNA, kde reagují na replikační stres, který je definován jako jakákoli událost, která zastaví replikační aparát. Proteiny FA chrání nově replikované (vznikající) řetězce DNA v případě zastavení replikace [67, 68] (přehled v [69]).

Působí v místech s nedostatečnou replikací DNA, známých jako běžná křehká místa [70–72], a bylo prokázáno, že hrají roli při odstraňování hybridů DNA:RNA, které se tvoří během transkripce a jejichž vznik je umocněn střety replikačních a transkripčních aparátů [73, 74].



Obrázek 1. Úloha proteinů spojených s Fanconiho anémií při opravě mezvláknových křížových vazeb (ICL) v DNA.

Tento zjednodušený model znázorňuje činnost proteinů spojených s Fanconiho anémií. Vychází z prací mnoha laboratoří, na které je odkazováno v textu. Podrobnější přehled molekulární dráhy a dalších proteinů, které se podílejí na opravě ICL, naleznete v nejnovějších přehledech [34–36]. Nejnovější studii o počátečních fázích regulace této dráhy během replikace proteinem TRAIP najdete v odkazu [75] a studie o překračování ICL najdete v odkazech [48, 49, 76, 77]. Podrobnosti naleznete v textu.

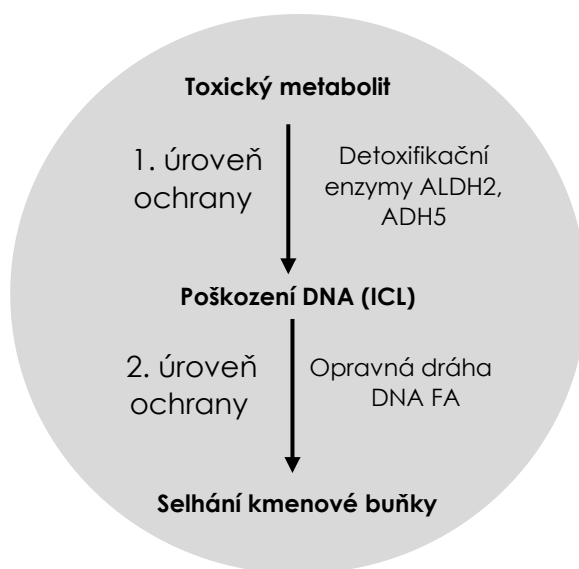
Opravná dráha DNA u Fanconioho anémie a toxické metabolity

Patofyziologii Fanconioho anémie (FA) lze nejlépe pochopit v kontextu hematopoetického systému, ačkoliv je v této oblasti zapotřebí dalšího výzkumu. Hematopoetické kmenové buňky (HSC) s chybnou dráhou FA vykazují zvýšenou míru poškození DNA a jejich úbytek je důsledkem aktivace dráhy p53, která spouští apoptózu [78]. Bylo rovněž prokázáno, že přivedení quiescentních/klidových HSC do buněčného cyklu prostřednictvím chronického krvácení nebo vyvolání reakce na interferon typu I může u FA-deficientních myší vyvolat selhání kostní dřeně (BMF) [79]. Tyto poznatky jsou v souladu s tím, že opravná dráha DNA FA reaguje na problémy, k nimž dochází během replikace DNA. Tyto problémy se mohou vyskytovat v místech replikačního stresu, jak je definováno výše, nebo v místech vzniku ICL v DNA způsobených metabolity, které se hromadí při dělení či diferenciaci kmenových buněk.

Endogenní metabolity, zejména reaktivní aldehydy, včetně acetaldehydu a formaldehydu, jsou úzce spojovány s patogenezí selhání HSC a vznikem nádorů u FA [80–83]. U myší s chybějícím ALDH2, enzymem, který odbourává acetaldehyd, dochází k selhání kostní dřeně a vzniku leukémie [80, 81], což jsou časté projevy pozorované u pacientů s FA (viz kapitola 3). Nedostatek enzymu ADH5, který se podílí na odbourávání formaldehydu, vede v myším modelu deficience FA k ještě rychlejšímu rozvoji selhání kostní dřeně [82]. Výsledky studií na myších, které odhalily genetickou interakci mezi acetaldehydem a opravnou dráhou DNA u FA, byly potvrzeny u pacientů s FA. Dominantní negativní varianta genu ALDH2 (ALDH2*2, rs671 G>A) je běžná u východoasijských národů, včetně etnických Chanů, Japonců a Korejců [84]. Nosiči této varianty vykazují výrazně sníženou enzymatickou aktivitu a u bialelických variant je aktivita téměř nulová [85, 86]. Hira et al. zkoumali kohortu japonských pacientů s FA a prokázali, že u pacientů, kteří byli nositeli varianty ALDH2*2, se vyskytoval zvýšený počet vrozených vad, časnější nástup selhání kostní dřeně, myelodysplastický syndrom a leukémie [83]. Přítomnost bialelických variant ALDH2*2 ještě výrazněji zhoršila fenotypy spojené s FA a vedla k závažnému klinickému obrazu onemocnění.

S ohledem na výše uvedené studie je užitečné uvažovat o dvouúrovňovém systému, který ilustruje, jak se savčí buňky chrání před endogenními toxickými metabolity (obrázek 2, zkoumáno v [87]). Jelikož toxické metabolity vznikají v rámci normálního buněčného metabolismu nebo v důsledku požití určitých látek (například alkoholu), enzymy, mezi něž patří aldehydázy a alkoholdehydrogenázy, tyto toxické metabolity detoxikují a přeměňují je na netoxické molekuly. I při plně funkční první úrovni ochrany některé toxické metabolity uniknou detoxikaci a způsobují poškození DNA. K odstranění vzniklých poškození DNA je poté zapotřebí

opravná dráha FA, která představuje druhou úroveň ochrany, aby se zabránilo buněčné smrti nebo mutagenezi. V případě, že v důsledku selhání první úrovně ochrany, kterou představuje enzymatická detoxikace, vzniká větší počet poškození, jsou buňky ještě více závislé na účinné opravné dráze DNA, a to kvůli větší zátěži způsobené škodlivými poruchami DNA. Nedostatečnost obou úrovní ochrany tudíž vede k závažnému onemocnění. Tento přístup lze uplatnit nejen u hematopoetických kmenových buněk, ale i u epitelových buněk, z nichž se vyvíjejí dlaždicobuněčné karcinomy (SCC). Jednalo by se o významnou souvislost, vzhledem k tomu, že pacienti s FA mají zvýšené riziko vzniku SCC (viz kapitoly 4 až 7). Je však pravděpodobné, že toxický metabolit podílející se na vzniku poškození DNA bude záviset na typu tkáně. Porozumění příčinám endogenního poškození DNA v buňkách s FA jistě přispěje k pochopení patogeneze tohoto onemocnění a může vést k vývoji nových léčebných postupů.



Obrázek 2. Dvoúrovňový systém ochrany hematopoetických kmenových buněk [87].

První úroveň, která zahrnuje geny ALDH2 a ADH5, detoxikuje metabolity (konkrétně acetaldehyd a formaldehyd), které mohou poškodit DNA. Opravná dráha DNA u Fanconiho anémie opravuje poškození způsobená metabolity, které unikly detoxikaci.



Shrnutí

Fanconiho anémie (FA) je způsobena chybnou opravou mezivláknových křížových vazeb (ICL) v DNA ve všech buňkách pacientů trpících tímto onemocněním. Výzkumníci dosud objevili 23 genů, které způsobují FA, a objasnili řadu klíčových molekulárních mechanismů, které regulují dráhu opravy DNA u FA. Absence funkční opravy ICL může mít dopad zejména na kmenové buňky, což vede k mnoha fenotypovým projevům spojeným s tímto onemocněním. Selhání kostní dřeně způsobené vystavením hematopoetických kmenových buněk endogenním nebo exogenním toxickým metabolitům v souvislosti s poruchou opravy DNA u FA bylo již důkladně popsáno. Je však zapotřebí dalšího výzkumu, abychom mohli komplexně pochopit, jak porucha opravné dráhy FA způsobuje FA a spinocelulární karcinom a jak lze mechanismy regulující tuto dráhu využít k vývoji nových způsobů léčby pro pacienty s FA.

Fond pro výzkum Fanconiho anémie oceňuje autorské příspěvky k 5. vydání:

Agata Smogorzewska, MD, PhD

Použitá literatura

1. Lo Ten Foe, J.R., et al., *Expression cloning of a cDNA for the major Fanconi anaemia gene, FAA*. Nat Genet, 1996. 14(3): str. 320-3.
2. Meetei, A.R., et al., *X-linked inheritance of Fanconi anemia complementation group B*. Nat Genet, 2004. 36(11): str. 1219-24.
3. Strathdee, C.A., et al., *Cloning of cDNAs for Fanconi's anaemia by functional complementation*. Nature, 1992. 356(6372): str. 763-7.
4. Howlett, N.G., et al., *Biallelic inactivation of BRCA2 in Fanconi anemia*. Science, 2002. 297(5581): str. 606-9.
5. Timmers, C., et al., *Positional cloning of a novel Fanconi anemia gene, FANCD2*. Mol Cell, 2001. 7(2): str. 241-8.
6. de Winter, J.P., et al., *Isolation of a cDNA representing the Fanconi anemia complementation group E gene*. Am J Hum Genet, 2000. 67(5): str. 1306-8.
7. de Winter, J.P., et al., *The Fanconi anaemia gene FANCF encodes a novel protein with homology to ROM*. Nat Genet, 2000. 24(1): str. 15-6.

8. de Winter, J.P., et al., The Fanconi anaemia group G gene FANCG is identical with XRCC9. *Nat Genet*, 1998. 20(3): str. 281-3.
9. Smogorzewska, A., et al., Identification of the FANCI protein, a monoubiquitinated FANCD2 paralog required for DNA repair. *Cell*, 2007. 129(2): str. 289-301.
10. Sims, A.E., et al., FANCI is a second monoubiquitinated member of the Fanconi anemia pathway. *Nat Struct Mol Biol*, 2007. 14(6): str. 564-7.
11. Dorsman, J.C., et al., Identification of the Fanconi anemia complementation group I gene, FANCI. *Cell Oncol*, 2007. 29(3): str. 211-8.
12. Levitus, M., et al., The DNA helicase BRIP1 is defective in Fanconi anemia complementation group J. *Nat Genet*, 2005. 37(9): str. 934-5.
13. Meetei, A.R., et al., A novel ubiquitin ligase is deficient in Fanconi anemia. *Nat Genet*, 2003. 35(2): str. 165-70.
14. Meetei, A.R., et al., A human ortholog of archaeal DNA repair protein Hef is defective in Fanconi anemia complementation group M. *Nat Genet*, 2005. 37(9): str. 958-63.
15. Singh, T.R., et al., Impaired FANCD2 monoubiquitination and hypersensitivity to camptothecin uniquely characterize Fanconi anemia complementation group M. *Blood*, 2009. 114(1): str. 174-80.
16. Bogliolo, M., et al., Biallelic truncating FANCM mutations cause early-onset cancer but not Fanconi anemia. *Genet Med*, 2018. 20(4): str. 458-463.
17. Catucci, I., et al., Individuals with FANCM biallelic mutations do not develop Fanconi anemia, but show risk for breast cancer, chemotherapy toxicity and may display chromosome fragility. *Genet Med*, 2018. 20(4): str. 452-457.
18. Reid, S., et al., Biallelic mutations in PALB2 cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer. *Nat Genet*, 2007. 39(2): str. 162-4.
19. Vaz, F., et al., Mutation of the RAD51C gene in a Fanconi anemia-like disorder. *Nat Genet*, 2010. 42(5): str. 406-9.
20. Jacquinet, A., et al., Expanding the FANCO/RAD51C associated phenotype: Cleft lip and palate and lobar holoprosencephaly, two rare findings in Fanconi anemia. *Eur J Med Genet*, 2018. 61(5): str. 257-261.
21. Kim, Y., et al., Mutations of the SLX4 gene in Fanconi anemia. *Nat Genet*, 2011. 43(2): str. 142-6.
22. Stoepker, C., et al., SLX4, a coordinator of structure-specific endonucleases, is mutated in a new Fanconi anemia subtype. *Nat Genet*, 2011. 43(2): str. 138-41.
23. Bogliolo, M., et al., Mutations in ERCC4, encoding the DNA-repair endonuclease XPF, cause Fanconi anemia. *Am J Hum Genet*, 2013. 92(5): str. 800-6.
24. Wang, A.T., et al., A Dominant mutation in human RAD51 reveals its function in DNA interstrand crosslink repair independent of homologous recombination. *Mol Cell*, 2015. 59(3): str. 478-90.
25. Ameziane, N., et al., A novel Fanconi anaemia subtype associated with a dominant-negative mutation in RAD51. *Nat Commun*, 2015. 6: str. 8829.
26. Sawyer, S.L., et al., Biallelic mutations in BRCA1 cause a new Fanconi anemia subtype. *Cancer Discov*, 2015. 5(2): str. 135-42.
27. Rickman, K.A., et al., Deficiency of UBE2T, the E2 ubiquitin ligase necessary for FANCD2 and FANCI ubiquitination, causes FA-T subtype of Fanconi anemia. *Cell*

- Rep, 2015. 12(1): str. 35-41.
28. Hira, A., et al., Mutations in the gene encoding the E2 conjugating enzyme UBE2T cause Fanconi anemia. *Am J Hum Genet*, 2015. 96(6): str. 1001-7.
 29. Virts, E.L., et al., AluY-mediated germline deletion, duplication and somatic stem cell reversion in UBE2T defines a new subtype of Fanconi anemia. *Hum Mol Genet*, 2015. 24(18): str. 5093-108.
 30. Park, J.Y., et al., Complementation of hypersensitivity to DNA interstrand crosslinking agents demonstrates that XRCC2 is a Fanconi anaemia gene. *J Med Genet*, 2016. 53(10): str. 672-80.
 31. Bluteau, D., et al., *Biallelic inactivation of REV7 is associated with Fanconi anemia*. *J Clin Invest*, 2016. 126(9): str. 3580-4.
 32. Knies, K., et al., Biallelic mutations in the ubiquitin ligase RFWF3 cause Fanconi anemia. *J Clin Invest*, 2017. 127(8): str. 3013-27.
 33. Keuhl, B., et al., Biallelic Mutaitons in FAAP100 Predispose to Fanconi Anemia, in *Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium*. 2018.
 34. Kottemann, M.C. and A. Smogorzewska, *Fanconi anaemia and the repair of Watson and Crick DNA crosslinks*. *Nature*, 2013. 493(7432): str. 356-63.
 35. Zhang, J. and J.C. Walter, Mechanism and regulation of incisions during DNA interstrand cross-link repair. *DNA Repair (Amst)*, 2014. 19: str. 135-42.
 36. Niraj, J., A. Farkkila a A.D. D'Andrea, *The Fanconi Anemia Pathway in Cancer*. *Annu Rev Cancer Biol*, 2019. 3: str. 457-478.
 37. Garcia-Higuera, I., et al., Interaction of the Fanconi anemia proteins and BRCA1 in a common pathway. *Mol Cell*, 2001. 7(2): str. 249-62.
 38. Taniguchi, T., et al., S-phase-specific interaction of the Fanconi anemia protein, FANCD2, with BRCA1 and RAD51. *Blood*, 2002. 100(7): str. 2414-20.
 39. Machida, Y.J., et al., UBE2T is the E2 in the Fanconi anemia pathway and undergoes negative autoregulation. *Mol Cell*, 2006. 23(4): str. 589-96.
 40. Ling, C., et al., FAAP100 is essential for activation of the Fanconi anemia-associated DNA damage response pathway. *EMBO J*, 2007. 26(8): str. 2104-14.
 41. Ali, A.M., et al., FAAP20: a novel ubiquitin-binding FA nuclear core-complex protein required for functional integrity of the FA-BRCA DNA repair pathway. *Blood*, 2012. 119(14): str. 3285-94.
 42. Kim, H., et al., *Regulation of Rev1 by the Fanconi anemia core complex*. *Nat Struct Mol Biol*, 2012. 19(2): str. 164-70.
 43. Bakker, S.T., et al., Fancm-deficient mice reveal unique features of Fanconi anemia complementation group M. *Hum Mol Genet*, 2009. 18(18): str. 3484-95.
 44. Ciccica, A., et al., Identification of FAAP24, a Fanconi anemia core complex protein that interacts with FANCM. *Mol Cell*, 2007. 25(3): str. 331-43.
 45. Kasak, L., et al., Bi-allelic Recessive Loss-of-Function Variants in FANCM Cause Non-obstructive Azoospermia. *Am J Hum Genet*, 2018. 103(2): str. 200-212.
 46. Yin, H., et al., A homozygous FANCM frameshift pathogenic variant causes male infertility. *Genet Med*, 2019. 21(1): str. 62-70.
 47. Collis, S.J., et al., FANCM and FAAP24 function in ATR-mediated checkpoint signaling independently of the Fanconi anemia core complex. *Mol Cell*,

2008. 32(3): str. 313-24.

48. Huang, J., et al., The DNA translocase FANCM/MHF promotes replication traverse of DNA interstrand crosslinks. *Mol Cell*, 2013. 52(3): str. 434-46.
49. Rohleder, F., et al., FANCM interacts with PCNA to promote replication traverse of DNA interstrand crosslinks. *Nucleic Acids Res*, 2016. 44(7): str. 3219-32.
50. Shakeel, S., et al., *Structure of the Fanconi anaemia monoubiquitin ligase complex*. *Nature*, 2019. 575(7781): str. 234-237.
51. Wang, S., et al., Structure of the Fanconi Anemia Core-UBE2T complex poised to ubiquitinate bound FANCI-FANCD2,. *bioRxiv*, 2019. 854158.
52. Alcon, P., et al., FANCD2-FANCI is clamp stabilized on DNA by monoubiquitination during DNA repair. *bioRxiv*, 2019. 854133.
53. Wang, R., et al., DNA clamp function of the mono-ubiquitinated Fanconi Anemia FANCI-FANCD2 complex. *bioRxiv*, 2019: p. 854133.
54. Räschle, M., et al., Mechanism of replication-coupled DNA interstrand crosslink repair. *Cell*, 2008. 134(6): str. 969-80.
55. Knipscheer, P., et al., The Fanconi anemia pathway promotes replication-dependent DNA interstrand cross-link repair. *Science*, 2009. 326(5960): str. 1698-701.
56. Klein Douwel, D., et al., XPF-ERCC1 acts in Unhooking DNA interstrand crosslinks in cooperation with FANCD2 and FANCP/SLX4. *Mol Cell*, 2014. 54(3): str. 460-71.
57. Svendsen, J.M., et al., Mammalian BTBD12/SLX4 assembles a Holliday junction resolvase and is required for DNA repair. *Cell*, 2009. 138(1): str. 63-77.
58. Fekairi, S., et al., Human SLX4 is a Holliday junction resolvase subunit that binds multiple DNA repair/recombination endonucleases. *Cell*, 2009. 138(1): str. 78-89.
59. Munoz, I.M., et al., Coordination of structure-specific nucleases by human SLX4/BTBD12 is required for DNA repair. *Mol Cell*, 2009. 35(1): str. 116-27.
60. Kim, Y., et al., Regulation of multiple DNA repair pathways by the Fanconi anemia protein SLX4. *Blood*, 2013. 121(1): str. 54-63.
61. Long, D.T., et al., Mechanism of RAD51-dependent DNA interstrand cross-link repair. *Science*, 2011. 333(6038): str. 84-7.
62. Elia, A.E., et al., RFWD3-Dependent Ubiquitination of RPA Regulates Repair at Stalled Replication Forks. *Mol Cell*, 2015. 60(2): str. 280-93.
63. Inano, S., et al., RFWD3-Mediated Ubiquitination Promotes Timely Removal of Both RPA and RAD51 from DNA Damage Sites to Facilitate Homologous Recombination. *Mol Cell*, 2017. 66(5): str. 622-634.e8.
64. Rickman, K.A., et al., Distinct roles of BRCA2 in replication fork protection in response to hydroxyurea and DNA interstrand crosslinks. *bioRxiv*, 2019. 811968.
65. Chen, C.C., et al., Homology-Directed Repair and the Role of BRCA1, BRCA2, and Related Proteins in Genome Integrity and Cancer. *Annu Rev Cancer Biol*, 2018. 2: str. 313-336.
66. Nijman, S.M., et al., The deubiquitinating enzyme USP1 regulates the Fanconi anemia pathway. *Mol Cell*, 2005. 17(3): str. 331-9.
67. Schlacher, K., et al., Double-strand break repair-independent role for BRCA2 in

- blocking stalled replication fork degradation by MRE11. *Cell*, 2011. 145(4): str. 529-42.
68. Schlacher, K., H. Wu, and M. Jasin, A distinct replication fork protection pathway connects Fanconi anemia tumor suppressors to RAD51-BRCA1/2. *Cancer Cell*, 2012. 22(1): str. 106-16.
69. Rickman, K. a A. Smogorzewska, Advances in understanding DNA processing and protection at stalled replication forks. *J Cell Biol*, 2019. 218(4): str. 1096-1107.
70. Chan, K.L., et al., Replication stress induces sister-chromatid bridging at fragile site loci in mitosis. *Nat Cell Biol*, 2009. 11(6): str. 753-60.
71. Howlett, N.G., et al., The Fanconi anemia pathway is required for the DNA replication stress response and for the regulation of common fragile site stability. *Hum Mol Genet*, 2005. 14(5): str. 693-701.
72. Naim, V. and F. Rosselli, The FANCD1 pathway and BLM collaborate during mitosis to prevent micro-nucleation and chromosome abnormalities. *Nat Cell Biol*, 2009. 11(6): str. 761-8.
73. Garcia-Rubio, M.L., et al., *The Fanconi Anemia Pathway Protects Genome Integrity from R-loops*. *PLoS Genet*, 2015. 11(11): str. e1005674.
74. Schwab, R.A., et al., The Fanconi Anemia Pathway Maintains Genome Stability by Coordinating Replication and Transcription. *Mol Cell*, 2015. 60(3): str. 351-61.
75. Wu, R.A., et al., TRAP1 is a master regulator of DNA interstrand crosslink repair. *Nature*, 2019. 567(7747): str. 267-272.
76. Huang, J., et al., Remodeling of Interstrand Crosslink Proximal Replisomes Is Dependent on ATR, FANCD1, and FANCD2. *Cell Rep*, 2019. 27(6): str. 1794-1808 e5.
77. Ling, C., et al., Bloom syndrome complex promotes FANCD1 recruitment to stalled replication forks and facilitates both repair and traverse of DNA interstrand crosslinks. *Cell Discov*, 2016. 2: str. 16047.
78. Ceccaldi, R., et al., Bone marrow failure in Fanconi anemia is triggered by an exacerbated p53/p21 DNA damage response that impairs hematopoietic stem and progenitor cells. *Cell Stem Cell*, 2012. 11(1): str. 36-49.
79. Walter, D., et al., Exit from dormancy provokes DNA-damage-induced attrition in haematopoietic stem cells. *Nature*, 2015. 520(7548): str. 549-52.
80. Langevin, F., et al., Fancd2 counteracts the toxic effects of naturally produced aldehydes in mice. *Nature*, 2011. 475(7354): str. 53-8.
81. Garaycochea, J.I., et al., Genotoxic consequences of endogenous aldehydes on mouse haematopoietic stem cell function. *Nature*, 2012. 489(7417): str. 571-5.
82. Pontel, L.B., et al., Endogenous Formaldehyde Is a Hematopoietic Stem Cell Genotoxin and Metabolic Carcinogen. *Mol Cell*, 2015. 60(1): str. 177-88.
83. Hira, A., et al., Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. *Blood*, 2013. 122(18): str. 3206-9.
84. Yoshida, A., I.Y. Huang a M. Ikawa, Molecular abnormality of an inactive aldehyde dehydrogenase variant commonly found in Orientals. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1984. 81(1): str. 258-61.

85. Crabb, D.W., et al., Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity. The inactive ALDH2(2) allele is dominant. *J Clin Invest*, 1989. 83(1): str. 314-6.
86. Lai, C.L., et al., Dominance of the inactive Asian variant over activity and protein contents of mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 in human liver. *Alcohol Clin Exp Res*, 2014. 38(1): str. 44-50.
87. Garaycoechea, J.I. a K.J. Patel, *Why does the bone marrow fail in Fanconi anemia?* *Blood*, 2014. 123(1): str. 26-34.

Kapitola 2

Diagnostika Fanconiho anémie: Testování a genetické poradenství

Úvod

Fanconiho anémie (FA) je vzácné genetické onemocnění, které je způsobeno poruchami opravy DNA vyplývajících z patogenních variant (PV) v nejméně 22 genech (FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1/BRCA2, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCIJ/BRIP1, FANCL, FANCM, FANCN/PALB2, FANCO/RAD51C, FANCP/SLX4, FANCO/ERCC4/XPF, FANCR/RAD51, FANCS/BRCA1, FANCT/UBE2T, FANCU/XRCC2, FANCV/REV7/MAD2L2 a FANCW/RFWD3), u nichž bylo zjištěno, že hrají roli v opravné dráze FA (viz kapitola 1). Všechny PV v těchto genech se dědí autozomálně recesivním způsobem, s výjimkou PV v genech FANCB a FANCR/RAD51, které se dědí vázaně na chromozom X, respektive autozomálně dominantně. Četnost nosičů jakékoli bodové mutace v jednom z genů FANC je v obecné populaci Spojených států 1:181 a v Izraeli 1:93 [1]. U některých populací se může vyskytovat tzv. efekt zakladatele, kdy je u určitých genů spojených s FA zvýšená frekvence nosičů PV.

Včasná diagnostika a charakterizace PV specifických pro daného pacienta mají zásadní význam, neboť tyto informace mohou ovlivnit rizika onemocnění a způsob klinické léčby pacienta, zejména v závažných případech.

Tato kapitola popisuje význam včasné diagnostiky a úlohu genetického poradenství, stejně jako cytogenetických a molekulárních testů používaných k diagnostice FA. Zabývá se také aspekty interpretace výsledků testů s cílem stanovit přesnou diagnózu, což je důležité pro určení dalšího klinického postupu a usnadnění provedení vhodných vyšetření u členů rodiny.

Klinické projevy a diagnostická vyšetření

U většiny pacientů s FA se projevy onemocnění objevují již při narození nebo v dětství [2]. Medián věku v době stanovení diagnózy je 7 let [3, 4], ačkoli závažnější fenotypy jsou obvykle diagnostikovány v mladším věku [5]. U osob bez zjevných fyzických vad nemusí být diagnóza stanovena až do dospělosti, pokud u nich nedojde k selhání kostní dřeně (BMF) (viz kapitola 3) nebo k růstu solidního nádoru (viz kapitoly 4 a 5) [4, 6].

Fyzický fenotyp

Fyzické fenotypy spojené s FA jsou multisystémové a mimořádně heterogenní, což může poskytnout vodítka pro vyšetření a včasnou diagnostiku [4, 7]. Klasické vrozené vady pozorované u FA jsou popsány v rámci sdružených vad VACTERL-H (páteřní vady, anální vady, srdeční vady, tracheoezofageální fistula, atřezie jícnu nebo dvanáctníku, renální vady, vady horních končetin a hydrocefalus) [8]. Přibližně 5 až 30 % pacientů s FA splňuje kritéria pro syndrom VACTERL-H (≥ 3 z 8 znaků) [9, 10, 11]. Z příznaků syndromu VACTERL-H je pro FA velmi charakteristická kombinace malformací ledvin a končetin [8]. Mezi další abnormality, které se u FA často vyskytují, patří příznaky popsané pod zkratkou PHENOS (pigmentace kůže, malá hlava, malé oči, poruchy nervového systému, otologické poruchy a malý vzrůst) [10]. Mezi nejčastější abnormality popsané v retrospektivních analýzách patří malý vzrůst (43 %), abnormality horních končetin (radiální paprsek) (40 %), změny pigmentace kůže, jako jsou skvrny typu *café au lait* (37 %), renální malformace (27 %), mikrocefalie (27 %) a abnormality mužských pohlavních orgánů (16 %) [4, 9]. Všechny tyto abnormality, s výjimkou těch, které postihují

pouze muže, jsou zahrnuty v klasifikaci VACTERL-H nebo PHENOS. Ačkoli u většiny pacientů bude zjištěna alespoň jedna abnormalita, až 40 % pacientů (rozmezí: 10-40%) nebude vykazovat žádné; absence abnormálních znaků tedy nevylučuje diagnózu FA [9, 10, 11, 12, 13].

Údaje shrnuté v tabulce 1 lze použít jako vodítko při posuzování pacientů, u nichž vzhled naznačuje možnost FA. Jakákoli kombinace abnormalit uvedených v tabulce 1 by měla zvýšit míru podezření na FA.

Tabulka 1. Projevy sloužící jako indikátory pro screening Fanconioho anémie.

Postižená oblast	Klinický projev
Růst	Intrauterinní růstová retardace; malý vzrůst vzhledem k gestačnímu věku; nízký vzrůst
Centrální nervový systém	Mikrocefalie; abnormality hypofýzy; hydrocefalus; Bellova obrna; arteriální malformace centrálního nervového systému; chybějící septum pellucidum a/nebo corpus callosum; další anomálie corpus callosum; hyperreflexie; defekty neurální trubice; Arnold-Chiariho malformace; Moyamoya; jednodukomorová hypoplastická adenohypofýza; platybasie; hypoplastický clivus; dilatované komory
Oftalmologie	Mikroftalmie; epikantální záhyby; úzké oční štěrby; telekantus; krátké nebo mandlovité oční štěrby; mikrokornea; ptóza; strabismus; katarakta
Otologie	Nedoslýchavost nebo hluchota; abnormální ušní boltce nebo jejich absence; nízko posazené nebo dozadu otočené uši; malé ušní kanálky nebo jejich absence; absence bubínku; mikrotiie; srostlé sluchové kůstky
Kardiopulmonální systém	Otevřená Botallova dučej; defekt síňového septa; defekt komorového septa; koarktace aorty; pulmonální nebo aortální stenóza; dvojí aortální oblouk; kardiomyopatie; Fallotova tetralogie; plicní atřezie; chybějící nebo posunutá vřetenní tepna
Gastrointestinální systém	Tracheoezofageální píštěl; ezofageální, duodenální nebo anální atřezie; neperforovaný konečník; anulární pankreas; malrotace nebo obstrukce střeva; duodenální membrána; biliární atřezie; cysta způsobená duplikací předního úseku trávicího traktu
Urogenitální systém	Močové ústrojí: podkovovitá, sigmoidní, ektopická, otočená, hypoplastická, dysplastická nebo chybějící ledvina; hydronefróza; hydroureter; stenóza močové trubice; reflux Mužský reprodukční systém: mikrofalus; srůst penisu a/nebo šourku; kryptorchismus; atrofická varlata nebo jejich absence; hypospadie; zakřivení; fimóza Ženský reprodukční systém: hypoplastická, chybějící nebo dvourohá děloha; aplázie nebo hypoplazie dělohy; atřezie nebo ageneze pochvy; dysgeneze pohlavních žláz
Kosterní systém	Palec a vřetenní kost: hypoplazie thenaru; absence nebo hypoplazie vřetenní kosti a/nebo palce; volně visící palec; rozštěpený palec; palec podobný prstu nebo abnormální poloha palce Kraniofaciální: trojúhelníkový obličej; špičatá brada; hypoplazie střední části obličeje; mikrosomie; hypertelorismus nebo hypotelorismus; kraniosynostóza; vysoký oblouk nebo rozštěp patra; mikrogнатie; vyklenuté čelo

Postižená oblast	Klinický projev
	Další kostní anomálie: dysplazie nebo absence loketní kosti; polydaktylie; klinodaktylie; hypoplazie karpálních kostí; spina bifida; Klippel-Feilův syndrom; anomálie obratlů; absence klíčních kostí; Sprengelova deformita; Perthesova choroba; vrozená dysplazie nebo dislokace kyčelního kloubu; skolióza; abnormality žeber; koňská noha; ageneze (hypoplazie) křížové kosti; rozdílná délka nohou; kyfóza; brachydaktylie; arachnodaktylie; abnormalita pažní kosti
Krycí soustava	Skvrny typu „café au lait“; hypopigmentace nebo hyperpigmentace

Zdroje použité pro tabulku 1: [4, 6, 9, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20]

Diagnostické testy

Každý pacient, u kterého existuje podezření na FA, by měl být odeslán k hematologovi a/nebo klinickému genetikovi či genetickému poradci, kteří mohou zajistit diagnostická vyšetření. Vzhledem k tomu, že testování FA je vysoce specializované, zejména pokud jde o hodnocení chromozomálních zlomů v reakci na poškození DNA, měly by tyto testy provádět pouze laboratoře s rozsáhlými zkušenostmi.

Všechny laboratoře (jak cytogenetické, tak molekulární), které se podílejí na provádění testů, by měly být akreditovány uznávaným regulačním orgánem a certifikovány k provádění testů FA pro účely lékařské péče. Mezi uznávané akreditační orgány ve Spojených státech, Kanadě a Evropě patří:

Spojené státy

- Certifikaci a akreditaci laboratoří zajišťují předpisy „Clinical Laboratory Improvement Amendments“ a College of American Pathologists.
- Organizace American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) poskytuje podrobné pokyny pro cytogenetické testování a interpretaci výsledků genetických testů [21].

Kanada

- Akreditační služby poskytují Belgická akreditační rada, Francouzský akreditační výbor, Německá akreditační agentura, Švýcarská akreditační služba a Britská akreditační služba.

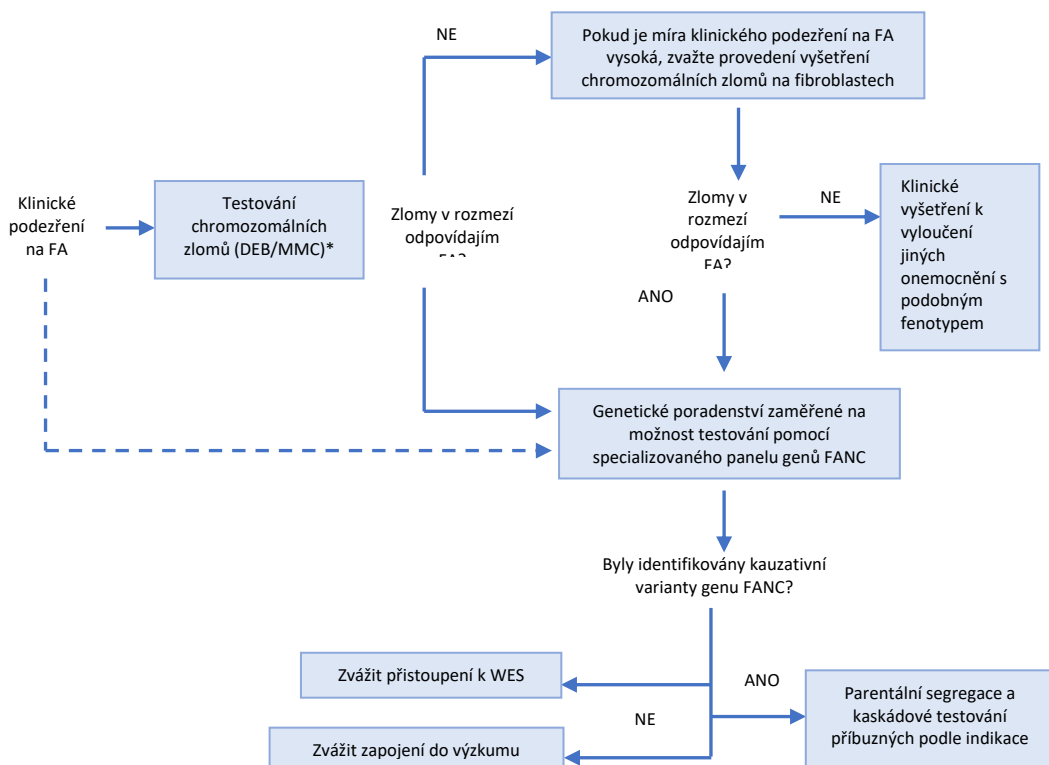
Evropa

- Akreditační služby poskytují Belgická akreditační rada, Francouzský akreditační výbor, Německá akreditační agentura, Švýcarská akreditační služba a Britská akreditační služba.

Doporučené postupy testování jsou znázorněny v diagramu na obrázku 1. Tento vývojový diagram znázorňuje jeden z možných algoritmů testování, který začíná testováním chromozomálních zlomů a končí genotypizací. Genetické testy se však stále častěji využívají jako diagnostický test první volby, zejména u novorozenců a dětských pacientů s vícečetnými vrozenými vadami. Bez ohledu na pořadí provádění testů je důležité, aby u všech osob s podezřením na FA byly provedeny jak testy na chromozomální zlomy, tak genetické testy zárodečné linie, aby byla zajištěna přesná diagnóza.

Test chromozomálních zlomů v lymfocytech periferní krve

Test na chromozomální zlomy je prvním vyšetřením, které by mělo být provedeno v případech podezření na FA. Toto vyšetření se provádí v klinické cytogenetické laboratoři, často na vzorku periferní krve pacienta. Periferní krev se ošetří diepoxybutanem (DEB), což je činidlo pro zesíťování DNA. Mitomycin C (MMC) je dalším síťovacím činidlem běžně používaným v tomto testu, ačkoli může vést k vyšší míře falešně pozitivních výsledků než DEB [22, 23]. Po vystavení buněk periferní krve těmto látkám poškozujícím DNA se zkoumá přítomnost známek poškození chromozomů [6, 24]. Buňky jedinců bez FA vykazují relativně málo chromozomálních zlomů či výměn. Naopak buňky pacientů s FA vykazují v každé buňce četné chromozomální zlomy a změny, včetně komplexních změn, jako jsou radiální struktury, které představují charakteristickou abnormalitu tohoto onemocnění. V souladu s doporučeními ACMG pro cytogenetické laboratoře [25] by zpráva o výsledcích testů měla obsahovat následující údaje: (1) míra zlomů a přeskupení, (2) rozložení zlomů chromozomů mezi buňkami, (3) průměrný počet aberací na buňku a (4) procentuální podíl buněk s radiálními strukturami.



Obrazek 1. Navrhovaný algoritmus pro vyšetření na Fanconioho anémii.

TZlatým standardem pro diagnostiku Fanconioho anémie (FA) je test na zlomy chromozomů s využitím činidel pro křížové vazby DNA, konkrétně diepoxybutanu (DEB). Lze použít také mitomycin C (MMC), ten však s sebou nese vyšší riziko falešně pozitivních výsledků [22, 23]. Tečkovaná čára: Pokud není k dispozici test na chromozomální zlomy, lze diagnózu FA přímo potvrdit genetickým testem. Pokud je výsledek vyšetření periferní krve negativní, ale klinické podezření na FA zůstává vysoké, může se jednat o falešně negativní výsledek způsobený somatickým mozaicismem v periferní krvi. Proto by se mělo provést opakované testování na fibroblastech kultivovaných z kožní biopsie. Pokud je výsledek testu na chromozomální zlomy pozitivní, je třeba provést panelové vyšetření na FA. Pokud je výsledek panelového testování na FA negativní, je třeba zvážit celoxomové sekvenování (WES) a/nebo výzkumné testování. V případech, kdy jsou výsledky testů na chromozomální zlomy negativní jak v krevních, tak v kožních buňkách, je třeba zvážit doporučení k vyšetření onemocnění, jejichž klinické příznaky se překrývají s FA.

Při provádění testu na zlomy chromozomů by laboratoř měla rovněž změřit výchozí úroveň chromozomálních zlomů, a to vyšetřením buněk, které nebyly

ošetřeny DEB a/nebo MMC. Výchozí míra chromozomálních zlomů se může u pacientů s různými variantami FA výrazně lišit. Například pacienti s variantami v genech FANCD1/BRCA2 nebo FANCN/PALB2 vykazují ve srovnání s jinými genotypy zvýšenou míru základního poškození chromozomů a neobvyklé kombinace abnormalit (vyvážené translokace, derivativní chromozomy, inverze a prstence) [26]. Zjištění výchozího počtu zlomů může rovněž pomoci při diagnostice dalších poruch chromozomální nestability, které se projevují specifickými typy chromozomálních abnormalit. Mezi tyto abnormality patří: (1) přeskupení chromozomů 7 a/nebo 14, k nimž běžně dochází u ataxie-telangiektázie a Nijmegenova syndromu; (2) telomerické přesuny a dicentrické chromozomy, které se často vyskytují u vrozené dyskeratózy; a (3) předčasné oddělení centromer, které je charakteristické pro Robertsův syndrom a varšavský syndrom chromozomální instability [27, 28, 29, 30, 31, 32, 33].

Interpretace výsledků testu chromozomálních zlomů

Ačkoli je test na chromozomální zlomy považován za zlatý standard pro diagnostiku FA, může i tak vést k falešně negativním výsledkům (test je negativní, ale pacient trpí FA) nebo k falešně pozitivním výsledkům (test je pozitivní, ale pacient FA netrpí). V následujících oddílech jsou popsány situace, kdy může dojít k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům

Pozitivní výsledek testu

Aby byly pozitivní výsledky testů na zlomy chromozomů považovány za průkazné pro diagnózu FA, musí ukázat chromozomální aberace vyvolané DEB nebo MMC. Analýza chromozomů musí být prováděna v metafázích s jednobarevným barvením (bez pruhování chromozomů), což omezuje vizualizaci chromozomálních aberací [34]. Hodnocení by mělo zahrnovat bodové hodnocení 50 metafází v každé kultuře. Pokud má více než 30 % buněk radiální struktury, stačí k vyhodnocení pouze 25 metafází. U každé metafáze je třeba vyhodnotit počet a typ chromozomálních aberací, přičemž aberace se rozdělují do následujících skupin: zlomy chromatid a chromozomů, centrické a acentrické fragmenty, prstence, dicentrika, radiální struktury a ostatní [34].

Výskyt radiálních struktur je rozhodujícím faktorem při stanovení diagnózy FA. Radiální struktury způsobené síťovacími činidly jsou považovány za charakteristický znak tohoto onemocnění a umožňují cytogeneticky odlišit FA od jiných syndromů s chromozomálními zlomy. Fanconioho anémie se diagnostikuje v případě, že je zjištěn zvýšený podíl buněk s radiálními strukturami. Jiné typy aberací, jako jsou zlomy, dicentrika a fragmenty, jsou nespecifické [35, 36]. Při konečném stanovení diagnózy se proto bere v úvahu počet aberantních buněk, stupeň poškození těchto buněk a typy aberací. Test se považuje za pozitivní na

FA, pokud je v kultuře DEB podíl buněk s radiálními strukturami 30 % nebo vyšší [37].

V případě pozitivního výsledku testu na zlomy chromozomů může hematolog nebo genetik pomoci s koordinací nezbytných dalších kroků. Je důležité provést následná vyšetření za účelem stanovení PV pacienta pomocí metod genotypizace popsanych dále v této kapitole.

V některých případech vznikne podezření na FA až poté, co je u dané osoby diagnostikována rakovina, například leukémie nebo solidní nádor. Lékař může mít podezření na FA, pokud se u pacienta vyskytnou závažné nežádoucí účinky genotoxických terapií používaných k léčbě zhoubného nádoru. U těchto pacientů je na místě provést test na chromozomální zlomy metodou DEB nebo MMC z periferní krve, avšak interpretaci výsledků může zkomplikovat zvýšená základní úroveň chromozomálních zlomů, která se může vyskytovat ve vzorcích krve pacientů léčených chemoterapií nebo ozařováním [23]. V takových případech může být užitečné provést testy na kultivovaných kožních fibroblastech.

Negativní výsledek testu

Výsledek testu na chromozomální zlomy se považuje za negativní, jestliže buňky v metafázi z kultur ošetřených DEB nebo MMC nevykazují zvýšený výskyt radiálních struktur chromozomů nebo jestliže míra pozorovaných zlomů či radiálních struktur spadá do normálního rozmezí stanoveného danou laboratoří. Je-li výsledek testu na chromozomální zlomy negativní a klinické nálezy nasvědčující FA jsou pouze slabé, nejsou zapotřebí žádná další vyšetření. Pokud však existují silné klinické příznaky FA, je třeba provést vyšetření kožních fibroblastů, aby se vyloučila možnost somatického mozaicismu. Kromě toho existuje řada poruch, jejichž klinické projevy se shodují s projevy FA a které jsou spojeny s určitou formou chromozomální nestability, a mohly by být zváženy [27, 28, 29, 30, 31, 32]. Pokud je výsledek testu na chromozomální zlomy negativní u pacienta s četnými nevysvětlitelnými klinickými příznaky, měl by být pacient odeslán k dalšímu genetickému vyšetření.

Nejednoznačný výsledek testu

Výsledky testů se považují za nejednoznačné nebo neprůkazné, pokud je podíl buněk vykazujících vzorce chromozomálních zlomů charakteristické pro FA nižší než laboratorní mezní hodnota pro FA, nebo pokud se vyskytuje zvýšený počet zlomů, ale typy těchto zlomů nejsou charakteristické pro FA. Procento buněk s radiálními strukturami může přesáhnout horní hranici normálního referenčního rozmezí, ale zároveň být nižší než dolní hranice referenčního rozmezí pro FA dané laboratoře. Mezi základní příčiny nejednoznačných výsledků patří mozaicismus v

buňkách periferní krve pacienta, hypomorfní varianty genů FANC a výskyt jiného onemocnění než FA, které se projevuje zvýšeným počtem chromozomálních zlomů.

Mozaicismus v buňkách periferní krve

Somatický mozaicismus může nastat v T-lymfocytech a hematopoetických kmenových buňkách osob s FA prostřednictvím různých mechanismů. Pokud existují silné klinické nálezy nasvědčující FA, ale výsledky testu na zlomy chromozomů v periferní krvi jsou negativní nebo nejednoznačné, je třeba provést další vyšetření fibroblastů získaných z kožní biopsie. Diagnózu FA lze potvrdit testem na chromozomální zlomy, který odhalí zvýšený počet zlomů ve fibroblastech, kde jsou typy zlomů a změn uspořádání charakteristické pro FA (radiální struktury). U 15 až 20 % pacientů s FA se vyskytuje určitý stupeň mozaicismu, přičemž jejich fibroblastové kultury vykazují zvýšenou náchylnost k poškození, zatímco lymfocyty nikoli. Reverzace patogenní varianty v hematopoetických kmenových buňkách byla zaznamenána u méně než 5 % pacientů s FA [38]. Původně nízký podíl buněk se somatickou reverzí (které již nelze charakterizovat jako buňky FA) se může v průběhu času zvyšovat a může být doprovázen spontánním zlepšením krevního obrazu. Mozaicismus zjištěný v lymfocytech periferní krve však nemusí odrážet mozaicismus v hematopoetických kmenových či progenitorových buňkách. Pacienti s vysokým podílem revertovaných buněk v testovaných lymfocytech proto v kostní dřeni nemusí mít žádné revertované buňky (nebo jen velmi malý podíl). Jelikož se buňky kostní dřene podílejí na vzniku leukémie, neměl by se jejich stav odvozovat pouze na základě výsledků vyšetření lymfocytů v periferní krvi; proto zůstává nejasné, zda se u pacientů s normalizovanými buňkami v periferní krvi změnil klinický průběh onemocnění. Je důležité si uvědomit, že přítomnost mozaicismu – ať už v krvi, nebo v kostní dřeni – nechrání jedince před vznikem klonálních chromozomálních abnormalit v populaci buněk, které si zachovávají svůj FA fenotyp, což může vést k rozvoji hematologických malignit. Mozaicismus v krvi nebo kostní dřeni rovněž nechrání před vznikem solidních nádorů.

Genetické testování zárodečné linie

Jsou-li výsledky testu na zlomy chromozomů pozitivní, je třeba provést genetické testování za účelem identifikace konkrétního typu či typů PV spojených s fenotypem FA daného pacienta. Genetické testování umožňuje stanovit přesnou diagnózu, což může přispět ke zlepšení klinické péče o osoby s předpokládanými souvislostmi mezi genotypem a fenotypem a o příbuzné, kteří jsou heterozygotními nosiči patogenních variant zvyšujících riziko vzniku zhoubných nádorů (viz oddíl „Riziko vzniku rakoviny u nosičů“ v této kapitole). Genetické

testování je dále užitečné pro screening před početím a prenatální diagnostiku a je nezbytné pro preimplantační genetickou diagnostiku (viz kapitola 7).

Sekvenování nové generace

Ještě donedávna byl hlavním způsobem, jak zjistit, které geny FANC jsou u pacientů s FA poškozené, genetický test známý jako komplementační analýza. Komplementační analýza je však pracná, nákladná a časově náročná. V uplynulém desetiletí vývoj a rozšíření technologií sekvenování nové generace (NGS) (označovaných také jako masivně paralelní sekvenování nebo multiplexní testování) zásadně změnil obor genetického testování, neboť umožňují podrobnou analýzu mnoha genů současně. V případě pozitivního výsledku testu chromozomálních zlomů by mělo být jako další krok nabídnuto panelové testování pomocí NGS zaměřené na klinicky relevantní geny FANC.

Klinické laboratoře se vyvinuly tak, že dnes nabízejí dva typy panelových testů: specializované panely (laboratoří předem vybrané geny související s fenotypem pacienta) a panely sestavené na míru (vlastní výběr relevantních genů z rozsáhlého seznamu genů). Při výběru panelu je důležité zvážit, zda byl test navržen tak, aby pokrýval oblasti s vysokou četností variant a/nebo genové oblasti, u nichž je známo, že představují problém při vyhodnocování výsledků. Například gen FANCD2 má dva pseudogeny, které mohou zkomplikovat přesnost a interpretaci výsledků testů [39, 40]. Vzhledem k tomu, že se poznatky o FA rychle rozvíjejí, mnoho laboratoří dosud do svých panelů nezahrnulo nedávno objevené geny FANC. Většina v současnosti dostupných testů tedy hodnotí pouze podmnožinu z 22 známých genů FANC [41, 42].

Kromě sekvenování by testování mělo vždy zahrnovat analýzu počtu kopií, která umožní identifikovat rozsáhlé delece, duplikace a inserce [43]. Tento krok je zásadní, protože u 35 % pacientů s FA se vyskytují rozsáhlé delece, které představují 18 % všech PV u FA [44]. Vzhledem k vysoké míře variant počtu kopií (CNV) představují techniky schopné detekovat delece, duplikace a inserce genů, jako je srovnávací genomová hybridizace na čípech, multiplexní amplifikace sond závislá na ligaci a analýza počtu kopií založená na NGS, důležitou součást procesu genetického testování [45, 46, 47]. Detekci CNV lze provádět souběžně s panelovým testováním nebo jako doplňkový test. Pokud jsou klinické nálezy naznačující FA méně přesvědčivé, lze zvážit použití širších panelů zaměřených na konkrétní fenotyp, jako je například BMF, myelodysplastický syndrom (MDS) nebo akutní myeloidní leukémie (AML). Rozsáhlé panely často neposkytují dostatečné informace o každém ze syndromů, které analyzují, a proto se v případě, že se diagnóza FA jeví jako pravděpodobná, stále upřednostňuje panel zaměřený specificky na FA.

Celoexomové a celogenomové sekvenování

Celoexomové sekvenování (WES) je metoda NGS, která je rozsáhlejší než sekvenování cílených panelů genů a jejímž cílem je sekvenovat všechny exony a sestřihová místa všech známých genů, které představují přibližně 2 % lidského genomu. Ještě rozsáhlejším využitím NGS je celogenomové sekvenování (WGS), při kterém se analyzuje celý lidský genom a které se v poslední době stává stále dostupnějším pro klinické účely; analýza se však nadále soustředí převážně na exony a místa sestřihu a schopnost interpretovat vliv variant mimo tyto oblasti zůstává omezená. Vysoké náklady na WES a WGS v současné době brání jejich využití jako testovacích nástrojů první volby. Celoexomové sekvenování může být opodstatněné u osob s diagnózou FA založenou na pozitivním výsledku testu na chromozomální zlomy, u nichž však při specializovaném panelovém testování na FA nebyly identifikovány žádné známé příčinné varianty.

Cílené panely dokážou identifikovat nové PV v rámci známých genů FANC, avšak pouze testy jako WES nebo WGS jsou schopny identifikovat nové geny FANC, protože zkoumají specifické oblasti genomu i další oblasti [40]. Kromě toho WGS analyzuje oblasti v rámci známých genů FANC, jako jsou například varianty v hlubokých intronech nebo v promotorech, které jiné metody nemusí zachytit. WGS proto může odhalit nové bodové mutace v klasických genech FANC. Ačkoli WES a WGS dokážou detekovat varianty v rozsáhlejších oblastech genomu než panelové testování, tyto metody NGS s sebou nesou určitá rizika a omezení (viz tabulka 2). Jak WES, tak WGS mohou odhalit větší počet variant s nejistým významem (VUS) v genu FANC nebo v jiných genech a mohou vyvolat etická dilemata, pokud budou zjištěny abnormální nálezy nesouvisející s fenotypem pacienta [40, 48]. Tyto možnosti by měly být pacientovi a/nebo jeho rodině předem vysvětleny. Genetičtí poradci a genetici mají zkušenosti s vedením rozhovorů o informovaném souhlasu a s předepisováním rozsáhlých sekvenačních testů, jako jsou WES nebo WGS. Mohou pomoci s interpretací výsledků a měli by se podílet na probírání výsledků s poskytovateli péče a rodinami. Tabulka 2 poskytuje přehled výhod a omezení sekvenování pomocí specializovaných genových panelů, WES nebo WGS.

Tabulka 2. Přínosy a omezení současných platform sekvenování nové generace.

Platforma	Přínosy	Rizika/omezení
Specifický panel genů	• V rámci jediného testu se analyzují klinicky dostupné geny spojené s fenotypem pacienta. • Může být kladen zvláštní důraz na určité oblasti, aby bylo možné získat přesné údaje o známých opakujících se PV a problémech při sekvenování (např. pseudogeny FANCD2). • Rychlé zpracování a nejlevnější varianta.	• Pokud není zahrnuta analýza počtu kopií, nebudou detekovány větší delece ani duplikace. • Nemusí detekovat varianty v hlubokých intronech ani varianty v promotorových oblastech genů. • Mohou být identifikovány varianty neznámého významu. • Je možné, že se náhodně zjistí riziko dědičné rakoviny nesouvisející s původní diagnózou FA.
Celo-exomové sekvenování (WES)	• V rámci jediného testu se sekvenují všechny kódující oblasti (exony) genomu. • Může představovat přínos pro pacienty, u nichž specializované panelové testování neprokázalo přítomnost PV (může poskytnout příležitost k objevu nových genů v rámci výzkumu). • V případě nejistoty ohledně diagnózy může poskytnout informace i o jiných onemocněních než FA.	• Není možné detekovat rozsáhlejší delece, duplikace ani strukturální změny, jako jsou translokace a inverze. • Není možné rozlišit oblasti pseudogenů ani detekovat varianty hloubkových intronů. • Celkové pokrytí je horší než u WGS a některé exony nejsou analyzovány efektivně. • Může odhalit nálezy, které nesouvisejí s diagnózou pacienta, a může objevit větší počet VUS než panelové testování. • Dražší a pomalejší než panelové testování.
Celo-genomové sekvenování (WGS)	• V rámci jediného testu se sekvenují všechny kódující i nekódující oblasti genomu (exony, introny a regulační oblasti). • Může být přínosem pro pacienty, u nichž nebyly při specializovaném panelovém testování ani při WES identifikovány žádné PV (může poskytnout příležitost k objevu nových genů v rámci výzkumu). • V případě nejistoty ohledně diagnózy může poskytnout informace i o jiných onemocněních než FA.	• Standardy pro definici klinického genomu se teprve vyvíjejí. • Aby bylo WGS klinicky relevantní, je třeba dále optimalizovat náklady na testování, dobu zpracování a interpretaci variant. • Může odhalit nálezy, které nesouvisejí s diagnózou pacienta, a může objevit větší počet VUS než panelové testování a WES.

Zvláštní aspekty genetického testování

Genetická diskriminace

Strach z diskriminace je častým důvodem k obavám u pacientů, kteří zvažují podstoupení genetického testování. Ke genetické diskriminaci dochází tehdy, když se s lidmi zachází odlišně proto, že mají genetickou variantu, která zvyšuje riziko výskytu dědičného onemocnění. Zákon o zákazu diskriminace na základě genetických informací (GINA) je federální zákon Spojených států, jehož cílem je chránit občany před diskriminací v oblasti zdravotního pojištění a zaměstnání [49]. GINA neposkytuje ochranu před genetickou diskriminací v případě jiných druhů pojištění, jako je životní pojištění, pojištění pro případ invalidity nebo pojištění dlouhodobé péče.

Interpretace variant

Detekce VUS představuje při interpretaci výsledků genetických testů hlavní překážku. Jak již název napovídá, VUS jsou variace v genetických sekvencích, u nichž nebyla prokázána žádná jasná souvislost s fenotypem. Ačkoli se u lidského genomu předpokládají přirozené variace, s rostoucím rozsahem analyzovaného genomu se zvyšuje pravděpodobnost nalezení nových a obtížně interpretovatelných variací sekvence. ACMG doporučuje použití standardního klasifikačního systému s cílem vytvořit společný jazyk pro interpretaci klinických variant [21]. Na základě konkrétních kritérií lze změnu sekvence z hlediska jejího vztahu k onemocnění charakterizovat jako patogenní, pravděpodobně patogenní, VUS, pravděpodobně benigní nebo benigní. Zatímco výsledky označené jako „patogenní“ a „pravděpodobně patogenní“ často postačují k stanovení genetické diagnózy, nálezy typu VUS je třeba interpretovat opatrně. V případě zjištění VUS by mělo být rodinám doporučeno, aby pravidelně jednou ročně kontaktovaly genetické pracoviště a sledovaly tak nejnovější informace o interpretaci jejich konkrétních variant a zapojily se do výzkumných studií zaměřených na posouzení patogenicity.

Fáze variant

Ačkoli sekvenační platformy dokážou detekovat přítomnost genomových variant, nemusí nutně detekovat „fázi“. Termín „fáze“ označuje genetický vztah mezi párem variant ovlivňujících stejný gen, přičemž varianty se klasifikují podle toho, zda jsou v poloze cis nebo v poloze trans. U variant typu cis se obě varianty nacházejí ve stejné kopii genu (obě varianty jsou na stejné alele), zatímco u variant typu trans se nacházejí v různých kopiích genu (jedna varianta je na jedné alele a druhá varianta na opačné alele). K určení diagnózy autozomálně recesivní FA v případě, že jsou zjištěny dvě různé PV, by proto mělo být nabídnuto testování rodičů, aby se potvrdilo, že se tyto varianty nacházejí v poloze trans.

Sekundární nálezy

S rostoucím počtem analyzovaných genů roste i možnost identifikace dalších nálezů, které mohou, ale nemusí souviset s důvodem vyšetření. Kromě identifikace základní genetické příčiny FA u konkrétního jedince mohou rozšířené panelové testy, WES a WGS odhalit také variantu v genu spojeném s dalšími zdravotními riziky. V tomto případě se neočekávaná varianta nazývá sekundární nález. Testování může například odhalit dvě varianty genu FANCA, které vysvětlují fenotyp FA u daného pacienta, a zároveň identifikovat jednu PV v genu FANCD1 spojenou se syndromem dědičného karcinomu prsu a vaječníků [50]. Pacienti (a/nebo v případě dětí jejich rodiče či zákonní zástupci) by měli být o možnosti sekundárního nálezu předem informováni. V případě WES a WGS sestavila ACMG konkrétní seznam genů, u nichž se doporučuje hlášení sekundárních nálezů [51]. Jako klíčová součást práva pacienta „nevědět“ je důležité v rámci rozhovoru o informovaném souhlasu s WES nebo WGS projednat možnost odmítnout sdělení sekundárních nálezů.

Negativní výsledek molekulárního testu

Negativní výsledky molekulárních testů je třeba u pacientů, jejichž výsledky testů na chromozomální zlomy spadají do rozmezí FA, vyhodnocovat obezřetně. Mezi možná vysvětlení negativního výsledku molekulárního testu patří následující: Mezi možná vysvětlení negativního výsledku molekulárního testu patří následující: (1) přítomnost PV v genech, které nejsou hodnoceny testovacím postupem (např. omezený panel), (2) typ varianty v genu, který nelze identifikovat pomocí současné technologie, (3) PV v dosud neobjeveném genu FANCA a (4) mozaicismus [52, 53]. U jedinců s fenotypem FA a negativními výsledky genetických vyšetření periferní krve lze v případě podezření na mozaicismus zvážit analýzu alternativního typu vzorku (například fibroblastů).

Analýza kostní dřeně ke zjištění somatických genetických variací

Analýza G-pruhování chromozomů

Po stanovení diagnózy FA je třeba provést cytogenetickou analýzu chromozomů v buňkách kostní dřeně standardní metodou G-pruhování. Cílem této analýzy je zjistit přítomnost klonu se získanými chromozomálními abnormalitami a v případě jeho zjištění charakterizovat pozorované abnormality. Identifikace klonu, tedy přítomnosti stejných numerických a/nebo strukturálních chromozomálních abnormalit ve více buňkách, je známkou abnormálního hematologického procesu. Význam cytogenetických nálezů je třeba vykládat v kontextu klinických nálezů, morfologických nálezů v kostní dřeni získaných při hematopatologickém

vyšetření a výsledků imunofenotypizace. Je také důležité poznamenat, že buňky pacientů s FA vykazují chromozomální nestabilitu, a je proto pravděpodobné, že u některých buněk dojde k náhodným, neklonálním abnormalitám. Klinická laboratoř provádějící chromozomální analýzu by měla disponovat odbornými znalostmi v oblasti cytogenetiky nádorů, měla by být obeznámena s FA a typy abnormalit spojených s tímto onemocněním a měla by být schopna rozlišit neklonální abnormality (které se omezují na jednotlivé buňky a nepředstavují vznik premaligního nebo maligního stavu).

Klonální abnormality

Myelodysplastický syndrom (MDS), akutní myeloidní leukémie (AML) a další hematologická zhoubná onemocnění jsou spojeny s klonálními abnormalitami; nalezení klonální abnormality proto může předznamenávat vznik novotvarů nebo prekancerózního stavu. Některé klonální abnormality u pacientů s FA mohou přetrvávat dlouhou dobu bez nepříznivých následků, zatímco jiné jsou spojeny s rychlejším průběhem nebo agresivnější formou onemocnění. V obou případech jsou klonální evoluce a klonální expanze často spojeny s progresí onemocnění. Pokud nejsou v kostní dřeni zjištěny žádné klonální abnormality, měla by se analýza G-pruhování opakovat každoročně. Pokud je zjištěn abnormální klon, měly by se provádět následné analýzy častěji než jednou ročně, aby bylo možné sledovat chování klonu a posoudit, zda dochází k jeho evoluci nebo expanzi. Aby bylo možné komplexně vyhodnotit výsledky chromozomální analýzy kostní dřene, měl by hematopatolog provést morfologické vyšetření a průtokovou cytometrii s imunofenotypizací za účelem další charakterizace abnormálních buněk.

U pacientů s MDS, AML a dalšími typy rakoviny lze nalézt opakující se klonální chromozomální abnormality (viz kapitola 3). U pacientů s FA se častěji vyskytují určité chromozomální abnormality, mezi něž patří získání materiálu z dlouhého raménka chromozomu 1, získání materiálu z dlouhého raménka chromozomu 3 a ztráta chromozomu 7. Tyto abnormality se mohou vyskytovat samostatně, nebo mohou být pozorovány v kombinaci navzájem či s jinými abnormalitami postihujícími další chromozomy [54, 55, 56, 57, 58]. Jedna studie zjistila, že přírůstek materiálu z dlouhých ramének chromozomů 1 a 3 a ztráta chromozomu 7 představovaly 75 % klonálních abnormalit pozorovaných u pacientů s FA [54]. Zejména přírůstek materiálu z 3q je specifický pro FA a často souvisí s cytogenetickým vývojem, který zahrnuje monosomii 7 a vede k MDS. V souladu s tím by zjištění přírůstku chromozomu 3q u pacienta se zjevným de novo MDS nebo AML mělo vést k doporučení provést test DEB na chromozomální zlomy.

Fluorescenční hybridizace in situ

Vzhledem k tomu, že daná klonální abnormalita, jako je například přírůstek materiálu na dlouhém raménku chromozomu 3, je často součástí složitější

strukturální abnormality (např. velmi malé množství materiálu z 3q může být translokováno na jiný chromozom), může být obtížné tuto abnormalitu přesně charakterizovat pouze pomocí G-pruhování. V takových případech může být fluorescenční hybridizace in situ (FISH), která využívá fluorescenčně značené sondy specifické pro určité oblasti chromozomů nebo geny, velmi přínosným doplňkem k analýze chromozomů metodou G-pruhování. Bez provedení FISH mohou být zcela přehlédnuty jiné nenápadné abnormality. Zatímco metoda G-pruhování zkoumá všechny chromozomy z hlediska abnormalit, metoda FISH obvykle zkoumá buňky z hlediska malého souboru předem stanovených abnormalit. Kromě toho se metoda G-pruhování omezuje pouze na dělící se buňky a je poměrně pracná, což omezuje celkový počet analyzovaných buněk. Naopak pomocí analýzy FISH lze prostřednictvím hybridizace v interfázi rychle vyšetřit více než 100 buněk. Tyto dvě techniky – G-pruhování a FISH – se tedy vzájemně doplňují. Vzhledem k tomu, že amplifikace chromozomů 1q a/nebo 3q a delece chromozomu 7 tvoří většinu klonálních abnormalit u pacientů s FA, doporučuje se, aby kromě G-pruhování 20 buněk v metafázi byla provedena také FISH u 100 až 200 buněk v interfázi za účelem detekce přítomnosti malého klonu nesoucího jednu z těchto tří abnormalit. Některé laboratoře provádějí analýzu metodou FISH u většího počtu oblastí souvisejících s MDS a AML (např. 5q, 20q) u pacientů s FA i bez FA. Panely FISH lze použít buď na vzorky nestimulované periferní krve, nebo na vzorky kostní dřeně. Shoda výsledků FISH u vzorků krve a kostní dřeně u pacientů s FA dosud nebyla jednoznačně prokázána; někteří lékaři a laboratoře však již začali provádět analýzy FISH na vzorcích periferní krve odebraných v konkrétních časových intervalech mezi každoročně plánovanými vyšetřeními kostní dřeně. Tato strategie provádění průběžných analýz FISH z krve se v současné době vyhodnocuje jako neinvazivní způsob častějšího sledování výskytu abnormálního klonu s amplifikací chromozomů 1q nebo 3q či monosomií 7.

Testování pomocí genových mikročipů

Testování pomocí genových mikročipů (microarray) je relativně nová technika, která se stala důležitým nástrojem pro cytogenetické a molekulární laboratoře. Techniky využívající mikročipy, jako je srovnávací hybridizace na mikročipu a/nebo analýza polymorfismů jednotlivých nukleotidů, umožňují identifikovat oblasti ztráty a/nebo zisku chromozomového materiálu, které mohou být v pruhových vzorcích příliš malé nebo příliš nejednoznačné, případně příliš složité na to, aby je bylo možné identifikovat pomocí konvenčních technik chromozomového pruhování. Někdy se v jedné buňce vyskytuje tolik abnormalit, že konkrétní abnormalita v podstatě zůstává skrytá. Techniky založené na mikročipech jsou vysoce citlivé při detekci a identifikaci původu oblastí s chromozomálními ztrátami a přírůstky. Techniky založené na mikročipech například umožňují rychle detekovat a charakterizovat přítomnost abnormality na 3q a poskytnout konkrétní informace o hranicích oblastí s amplifikací. Jedním z omezení těchto technik je však to, že

klonální abnormalita musí být přítomna v dostatečně vysokém procentu buněk (obvykle >10 %), aby mohla být detekována. Na rozdíl od analýzy FISH a konvenční analýzy G-pruhování neposkytuje mikročipová analýza informace o jednotlivých buňkách, ale poskytuje výsledky založené na celkové populaci buněk vzorku. Nicméně vzhledem k tomu, že testování pomocí mikročipů je dnes široce dostupné, doporučuje se mikročipovou analýzu provést v případech, kdy jsou výsledky chromozomálního vyšetření kostní dřeně složité.

Souvislosti mezi genotypem a fenotypem u Fanconiho anémie

Fanconiho anémie je geneticky i klinicky heterogenní onemocnění. V některých případech může být znalost mutovaného genu a konkrétních PV klíčová pro identifikaci potenciálních rizik a pochopení klinického průběhu onemocnění. Zatímco některé genotypy jsou spojeny s dalšími riziky onemocnění, která vyžadují screening rizik nad rámec běžných doporučení pro léčbu FA, jiné genotypy nebyly s obvyklými příznaky FA spojeny. Je důležité si uvědomit, že informace o genotypu a fenotypu často vycházejí z údajů o omezeném počtu pacientů a že byly zaznamenány případy odchylek od tradičních fenotypů. V následujících oddílech je uvedeno několik souvislostí mezi genotypem a fenotypem u FA, o nichž jsou k dispozici dostatečné informace. Další informace o souvislostech mezi genotypy a fyzickými fenotypy u FA najdete v práci Fiesco-Roa et al. [9].

FANCA

Jedna studie uvádí, že u jedinců s homozygotními nulovými PV v genu FANCA se anémie objevuje v mladším věku a výskyt leukémie je u nich vyšší než u jedinců s variantami genu FANCA s reziduální funkcí [59]. Samostatná analýza však ukázala, že věk nástupu anémie a incidence leukémie se u pacientů s homozygotními nulovými PV FANCA ani u pacientů, kteří exprimují abnormální formu tohoto proteinu (hypomorfní PV), nezměnily [60]. Nedávná studie z Izraele prokázala, že u pacientů s PV FANCA se rakovina objevuje ve výrazně vyšším věku než u pacientů s jinými genotypy, avšak celková doba přežití není ovlivněna postiženým genem [61]. Konkrétní varianty v genu FANCA, jako jsou například varianty p.His913Pro a p.Arg951Gln/Trp, byly spojeny s pozdějším nástupem onemocnění a pomalejší hematologickou progresí [62].

FANCB

U mužů s truncační PV v genu FANCB se často vyskytují zjevné příznaky odpovídající syndromu VACTERL-H [9, 45, 63, 64]. U pacientů s missense variantami nebo somatickým mozaicismem byl popsán mírnější fenotyp [65, 66]. Zdá se, že

ženy, které jsou přenašečkami genu FANCB (heterozygotní), nevykazují žádné příznaky souvisejícího onemocnění [63].

FANCC

Podle Mezinárodního registru Fanconiho anémie (IFAR) se u osob s PV v genu FANCC projevila BMF v dřívějším věku a tyto osoby měly horší prognózu přežití ve srovnání s osobami s variantami v genech FANCA nebo FANCG [67]. Tento nález nebyl popsán Evropskou výzkumnou skupinou pro Fanconiho anémii, která uvádí méně závažný hematologický průběh a menší počet somatických abnormalit ve skupině s mutací FANCC ve srovnání s pacienty s mutacemi FANCA a FANCG [59]. Některé PV v genu FANCC byly spojeny se specifickými fenotypy. Varianty nacházející se v oblasti genu označované jako exon 15 (dříve exon 14) jsou spojeny s výskytem krevních abnormalit v ranějším věku, větším počtem vrozených vad a horšími šancemi na přežití ve srovnání s variantami v exonu 2 (dříve exon 1) [67, 68]. Bylo rovněž popsáno, že varianta c.456+4A>T (dříve známá jako IVS4+4A>T) je spojena s závažnějším průběhem onemocnění u jedinců z populace aškenázských Židů [68, 69]. Tato varianta však byla zaznamenána i u jiných populací [70, 71] a u některých jiných skupin nemusí být spojena s závažným fenotypem [72]. Několik studií naznačilo, že zakladatelská varianta c.67delG (dříve známá jako c.322delG) je spojena s mírnějšími příznaky, byly však hlášeny i výjimky [68, 69, 73]. Studie provedená u saúdské populace uvádí, že zakladatelská varianta c.165+1G>T může být rovněž spojena s mírnějším průběhem onemocnění [74].

FANCD1/BRCA2

Studie zveřejněná v roce 2002 uvádí, že u jedinců s FA a biallelickými PV v genu FANCD1/BRCA2 může dojít k rozvoji leukémie – zejména AML nebo akutní lymfoblastické leukémie (ALL) – v mnohem dřívějším věku než u jedinců s jinými genotypy FA [75]. U těchto pacientů také existuje riziko vzniku solidních nádorů mozku (např. medulloblastom, multifonní glioblastom, astrocytom) a ledvin (např. Wilmsův nádor), které se u pacientů s FA obvykle nevyskytují [76, 77]. Pokud má pacient biallelické PV v genech FANCD1 a BRCA1, je třeba zvážit provedení doplňkového screeningu pomocí magnetické rezonance mozku a ultrazvukového vyšetření ledvin [78]. Nedávný komplexní přehled, který analyzoval 71 pacientů s biallelickými PV v genech FANCD1/BRCA2, potvrdil souvislost mezi těmito typy nádorů a genotypem FANCD1/BRCA2 a ukázal, že u pacientů s genotypem FANCD1 se může vyskytnout více nádorových onemocnění a že k jejich projevu dochází v mladším věku [79].

Zatímco některé studie u pacientů s biallelickými PV v genech FANCD1/BRCA2 prokázaly závažný fenotyp, včetně četných vrozených vad a 97% rizika vzniku

jakéhokoli zhoubného nádoru do věku 5,2 let [76], existují zprávy o starších jedincích s mírnějším průběhem onemocnění nebo s pozdějším nástupem a v některých případech o neobvyklých maligních nádorech spojených s mutacemi v genech FANCD1/BRCA2 (např. lymfom, adenokarcinom tlustého střeva, karcinom prsu) v raném dospělém věku [75, 80, 81, 82, 83]. Další zprávy o předčasném ovariálním selhání (POI) u osob s FA způsobeným biallelickými mutacemi v genech FANCD1 a BRCA2PV dále naznačují možnost širokého spektra onemocnění u těchto pacientů [84, 85].

FANCG/XRCC9

Evropská výzkumná skupina pro Fanconiho anémii uvádí, že u osob s PV v genech FANCG/XRCC9 se vyskytuje závažnější cytopenie a vyšší incidence leukémie než u pacientů s variantami v jiných genech FANC [59]. Tento vzorec však nebyl zaznamenán v datovém souboru, který analyzoval IFAR [67].

FANCM

K lepšímu pochopení fenotypu FANCM jsou tedy zapotřebí další informace. FANCM byl v roce 2005 navržen jako gen jadrového komplexu FA a byl spojen s fenotypem FA v rodině s postiženými sourozenci [86]. U postižených sourozenců byly později identifikovány biallelické PV FANCA, což vyvolalo otázku, zda je FANCM kanonickým genem FANC [87]. Od té doby byly identifikovány biallelické varianty genu FANCM se ztrátou funkce u jedinců s širokou škálou fenotypů, včetně časně vznikající rakoviny (dlaždicobuněčný karcinom a rakovina prsu) s toxicitou léčby bez zjevného BMF nebo vrozených vad, chromozomální fragility s vrozenými vadami a BMF, či poruch plodnosti (např. POI, oligospermie, azoospermie) [88, 89, 90, 91, 92, 93, 94].

FANCN/PALB2

Patogenní varianty v genu FANCN/PALB2 jsou obvykle spojeny s závažnějším klinickým obrazem. Podobně jako u fenotypu FANCD1/BRCA2 se u jedinců s PV v genu FANCN/PALB2 vyvíjí leukémie a specifické spektrum solidních nádorů v mladším věku než u pacientů s PV v jiných genech FANC [79, 95]. Mezi nejčastěji uváděné nádory patří meduloblastom, Wilmsův nádor, AML a neuroblastom [79, 95, 96, 97]. Vzhledem k tomu, že neexistují konkrétní jednotné pokyny, lze doporučení týkající se onkologického sledování pacientů s biallelickými PV FANCD1/BRCA2 zvážit i u osob s PV FANCN/PALB2. Byly popsány fenotypy ležící mimo toto spektrum [98], což naznačuje, že další případy by mohly fenotypové spektrum FA spojené s geny FANCN/PALB2 ještě rozšířit.

FANCO/RAD51C

Byly popsány dvě rodiny s poruchou podobnou FA a biallelickými PV v genu FANCO/RAD51C [99, 100]. V obou rodinách vykazovaly postižené osoby závažné vrožené vady, včetně některých, které jsou pro FA atypické, jako jsou vady patra, holoprosencefalie a srostlé prsty. Přecitlivělost na DEB a MMC a zvýšený počet radiálních struktur potvrdily diagnózu FA. Riziko BMF a solidních nádorů u pacientů s PV FANCO/RAD51C zůstává neznámé.

FANCR/RAD51

Zatímco u téměř všech genů FANC je k vyvolání onemocnění nutná PV na obou kopiích genu (biallelická forma), u genu FANCR/RAD51 stačí jediná PV (monoalelická forma). Ve dvou popsáných případech byly u probandů identifikovány de novo monoalelické PV v genech FANCR/RAD51, což vedlo k fenotypu podobnému FA s vroženými abnormalitami, avšak bez zjevného hematologického onemocnění nebo rakoviny [101, 102].

Monoalelické PV v genech FANCR/RAD51 byly rovněž spojeny s vroženými zrcadlovými pohyby, což je autozomálně dominantní porucha s neúplnou penetrancí [103, 104, 105, 106]. Dosud nebyly popsány fenotypy FA a vrožených zrcadlových pohybů u téhož jedince.

FANCC/ERCC4/XPF

Kromě fenotypu FA byly biallelické PV v genech FANCC/ERCC4/XPF spojeny s autosomálně recesivním Cockayneovým syndromem, xeroderma pigmentosum a jedním případem syndromu předčasného stárnutí XFE [107, 108, 109, 110]. U postižených jedinců se může projevit jediný fenotyp nebo více fenotypů současně, v závislosti na tom, jak je ovlivněna funkce genu [107, 108, 109, 110].

FANCS/BRCA1

První potvrzený případ biallelické PV v genech FANCS/BRCA1 byl popsán u 28leté ženy s papilárním serózním karcinomem vaječníků ve IV. stadiu a závažnou toxicitou při léčbě cisplatinou, ačkoli diagnóza nebyla potvrzena testem na chromozomální zlomy [111]. Celkem bylo popsáno devět případů, přičemž u všech byla pozorována mikrocefalie, porucha růstu, hypopigmentace nebo hyperpigmentace kůže a faciální dysmorfie. U pěti osob ve věku od 2 do 30 let byla diagnostikována rakovina, z toho u dvou pacientek rakovina prsu a po jednom případě rakoviny vaječníků, T-buněčné ALL a neuroblastomu; vykazovaly různou míru citlivosti na chemoterapii a proměnlivé reakce na látky způsobující mezivláknové křížové vazby. U žádného z těchto jedinců nebylo zjištěno BMF ani imunodeficiencie [112, 113, 114, 115, 116].

Další aspekty genetického poradenství

Rozhodnutí o provedení jakéhokoli druhu genetické analýzy by mělo být ponecháno na uvážení pacienta nebo jeho zákonného zástupce. Genetické testování má své výhody, rizika i omezení, které je třeba předem zvážit, aby bylo možné učinit informované rozhodnutí, zda testování podstoupit. Složitost genetického testování vyžaduje podrobný rozhovor s genetickým poradcem nebo genetikem, protože nesprávná diagnóza či nesprávná interpretace výsledků testů může mít významný dopad na pacienty a jejich rodiny. Pacienti by měli absolvovat konzultaci se zkušeným genetikem v okamžiku stanovení diagnózy i v dalších fázích svého života. Genetická konzultace by měla zahrnovat informace o následujících tématech: Postup genetického testování

- Postup genetického testování
- Rodinná anamnéza, zdravotní anamnéza a anamnéza těhotenství
- Dědičnost FA
- Možnosti reprodukce pro pacienty, stejně jako pro jejich rodiče a další příbuzné
- Možnosti výzkumu
- Komunitní podpora a zdroje

Rodinná anamnéza

U pacientů s FA je třeba získat podrobnou rodinnou anamnézu zahrnující alespoň tři generace. Rodinná anamnéza může pomoci při identifikaci dalších členů rodiny s klinickými příznaky souvisejícími s FA a při určení způsobu dědičnosti. Je třeba zaznamenat fyzické abnormality, cytopenie, opakované potraty, původ a jakýkoli výskyt rakoviny v rodinné anamnéze.

Předci

K většině PV dochází bez ohledu na původ pacienta. Některé PV, označované jako „zakladatelské mutace“, se však v určitých populacích vyskytují častěji. Informace o zakladatelských PV mohou být užitečné z několika důvodů, mimo jiné pro určení předpokládaného fenotypu a odhad frekvence nosičství v konkrétní populaci. Příklady obou scénářů jsou následující:

- **Definování očekávaného fenotypu:**

PV FANCC c.67delG, která je běžná u severoevropanů [68], a PV FANCA p.His913Pro, která se zřejmě často vyskytuje u sicilské populace [62], jsou obvykle spojovány s mírnějším fenotypem FA. Naopak varianta FANCC c.456+4A>T je u aškenázských Židů spojena se závažným fenotypem [69], avšak u Japonců se stejnou variantou se tato závažnost nemusí nutně projevit [72].

- **Frekvence nosičství v konkrétních populacích:**

Zatímco frekvence nosičů FA v obecné populaci Spojených států se na základě hlášené incidence FA odhaduje přibližně na 1:181, v určitých populacích, jako jsou španělská Romové, Afričtí a aškenázští Židé, je frekvence nosičů vyšší v důsledku známých zakladatelských událostí [1]. Tyto informace mohou posloužit jako podklad pro reprodukční poradenství u osob s osobní nebo rodinnou anamnézou FA, pokud etnický původ jejich partnera zvyšuje riziko, že je nosičem FA.

Přehled zakladatelských variant genu FANCA je uveden v tabulce 3

Tabulka 3. Prokázaná rizika vzniku rakoviny u nosičů, která vyžadují úpravu péče

Gen	Patogenní varianta(y)	Etnická příslušnost	Četnost nosičů	Reference
FANCA	c.3758_3790del	Brazílci	Není známo	[60]
	c.295C>T	Španělská Romové	1 z 70 osob	[117]
	c.1007-?_3066+?del	Afričtí	1 z 80 osob	[118, 119]
	c.3398delA	Afričtí	Není známo	[118]
	c.2546delC	Korejci, Japonci	Není známo	[120, 121]
	c.3720_3724del	Korejci, Japonci	Není známo	[120, 121]
	Delece exonu 15	Tunisané	Není známo	[122, 123]
	c.2222+166G>A	Tunisané	Není známo	[123]
	Delece exonů 4 a 5	Tunisané	Není známo	[123]
	2172_2173insG	Maročtí	Není známo	[124]
	c.4275delT	Maročtí	Není známo	[124]
	c.890_893del	Tunisané	Není známo	[124]
	c.2574C>G	Indové	Není známo	[124]
FANCC	c.456+4A>T	Aškenázští Židé	1 z 90 osob	[125, 126]
	c.165+1G>T	Saudští Arabové	Není známo	[74]
	c.456+4A>T	Japonci	Není známo	[72]
	c.67delG	Mennonité	Není známo	[73, 127]
FANCD1/BRCA2	c.8756delG	Kypřané	Není známo	[128, 129]
	c.6174delT	Aškenázští Židé	1-2 ze 100 osob	[130]
FANCD2	c.1948-16T>G	Turci	Není známo	[131]
FANCG/XRCC9	c.637_643del	Jihoafričtí	1 z 100 osob	[132]
	c.307+1G>C	Korejci, Japonci	Není známo	[120, 133]
	c.1066C>T	Korejci, Japonci	Není známo	[120, 133]
	c.1480+1G>C	Francouzští Akadijci	Není známo	[134]
	c.511-3_511-2delCA	Židé z kmene Mixe (Mexiko)	Není známo	[135]
	c.313G>T	Němci	Není známo	[136]
	c.1066C>T	Brazílci, Portugalci	Není známo	[134]
	c.1589_1591delATA	Korejci	Není známo	[137]
	c.1649delC	Turci	Není známo	[136]
FANCL	c.1092G>A	Jihoafričtí	Není známo	[138]

Genetické testování rodinných příslušníků

Jakmile je znám genotyp dané osoby, mohou se členové rodiny podrobit „cílené“ analýze (nazývané také testování nosičství nebo testování jedné mutace), aby se zjistil jejich status nosiče a aby bylo možné zohlednit tuto informaci při plánování rodičovství. Pokud je to možné, měla by být nejprve vyšetřena nemocná osoba. Pokud však není možné u dané osoby provést specializované testování na FA, je rozumným přístupem panelové testování k určení nosičství u příbuzných, ačkoli interpretaci výsledků mohou komplikovat nálezy VUS. Negativní výsledek testu u zdravého příbuzného by se měl rovněž vykládat s opatrností.

Vzhledem ke klinické variabilitě FA (a to i v rámci jedné rodiny) by testy na chromozomální zlomy měli podstoupit všichni biologičtí sourozenci osoby s FA. Obzvláště důležité je to v souvislosti s transplantací, kdy je jako potenciální dárce určen člen rodiny.

Dědičnost Fanconiho anémie

Fanconiho anémie se dědí převážně autozomálně recesivním způsobem, což znamená, že postižení jedinci mají v obou alelách stejného genu FANC patogenní variantu (PV) způsobující onemocnění. Existují však dvě formy, které se od tohoto vzorce odchyľují: jedna se dědí vázaně na chromozom X (FANCB) a druhá autozomálně dominantním způsobem (FANCR/RAD51).

Autozomálně recesivní dědičnost

Při autozomálně recesivní formě dědičnosti musí mít jedinec PV na obou kopiích stejného genu FANC (biallelická alterace), aby se u něj toto onemocnění projevilo. Biologickým rodičům osoby s FA by mělo být nabídnuto testování na nosičství, aby se potvrdilo, že oba rodiče jsou nositeli jedné ze známých PV a že tyto varianty jsou v trans pozicích (na různých kopiích genu). Ačkoli jde o vzácné případy, je možné, aby rodič měl negativní výsledek testu. Vysvětlení tohoto negativního výsledku zahrnují následující možnosti:

- U vajíčka nebo spermie, které se podílely na početí dítěte, došlo ke spontánní změně (tzv. varianta de novo).
- Tuto variantu obsahuje pouze nepatrná část pohlavních buněk rodiče (tento jev se nazývá germinální nebo gonádální mozaicismus).
- Došlo k uniparentální disomii, při níž byla jedna varianta přítomna na obou kopiích genu a byla zděděna pouze od jednoho z rodičů. Tento jev byl dosud zaznamenán pouze u pacientů s mutacemi v genech FANCA a FANCP [139]

- Dítě bylo adoptováno, bylo počato pomocí darovaného vajíčka nebo spermatu, případně nebylo přesně uvedeno, kdo je jeho otcem či matkou.
- Během testování došlo k záměně vzorků.

V případě autozomálně recesivní dědičnosti, kdy je potvrzeno, že oba rodiče jsou nosiči PV, je u každého dítěte 25% pravděpodobnost, že bude trpět FA. Nepostížení sourozenci (s negativním výsledkem testu chromozomálních zlomů) mají 67% pravděpodobnost, že budou nosiči PV genu FA. Dědičnost je důležitým faktorem také v okamžiku, kdy osoba s FA dosáhne reprodukčního věku. Ačkoli byla pozorována snížená plodnost, někteří jedinci mají biologické potomky [140, 141]. Pravděpodobnost, že se narodí dítě postižené onemocněním, závisí na genetickém stavu partnera. Doporučuje se, aby partner podstoupil sekvenování a analýzu delecí a/nebo duplikací v genu FANCA, který je příčinou onemocnění. Pokud je například u postiženého jedince příčinou FA patogenní varianta FANCA, je u partnera indikována komplexní analýza genu FANCA. V závislosti na genetickém stavu páru jsou možné následující výsledky těhotenství:

- Pokud má partner negativní výsledek testu, je pravděpodobnost, že se narodí dítě s FA, velmi nízká. Všechny děti budou nosiči.
- Pokud má partner pozitivní výsledek testu na PV ve stejném genu FANCA, je u každého dítěte 50% pravděpodobnost, že bude trpět FA, a 50% pravděpodobnost, že bude nosičem FA.
- Pokud oba partneři trpí FA v důsledku PV ve stejném genu FANCA, všechny jejich děti (100 %) budou rovněž trpět FA.
- Pokud oba partneři trpí FA v důsledku variant v různých genech FANCA, budou jejich děti nosiči dvou různých forem FA (dvojitá heterozygotnost). Pravděpodobnost, že by jejich děti byly postiženy, je velmi nízká, za předpokladu, že výsledky komplexního testování na přítomnost genu FANCA, který souvisí s diagnózou FA u druhého partnera, budou u obou jedinců negativní.

Je-li v rodině zjištěna autozomálně recesivní forma FA, lze širšímu okruhu příbuzných z obou stran rodiny nabídnout testování na nosičství známých familiárních variant genu FANCA.

Dědičnost vázaná na chromozom X

U onemocnění vázaného na chromozom X se gen způsobující onemocnění nachází na chromozomu X. U FA se tato dědičnost týká genu FANCB. Ženy mají dva chromozomy X, zatímco muži mají jeden chromozom X a jeden chromozom Y. Pokud je žena nositelkou jednoho mutovaného genu FANCB (heterozygotní), je u každého dítěte 50% pravděpodobnost, že tuto mutaci zdědí. Všichni synové, kteří zdědí PV, budou postiženi. Všechny dcery, které zdědí PV, budou

přenašečkami. Pokud je výsledek testu na nosičství u matky postiženého chlapce negativní, je pravděpodobné, že se u chlapce PV FA objevila de novo, ačkoli nelze vyloučit mozaicismus v zárodečné linii. Z tohoto důvodu by se u mužských sourozenců pacienta s FA způsobenou PV FANCB mělo provést vyšetření chromozomálních zlomů nebo cílené genetické vyšetření zaměřené na familiární PV. U příbuzných z matčiny strany v těchto rodinách je vyšší pravděpodobnost, že budou nosiči PV nebo budou trpět onemocněním. Všechny dcery postižených mužů budou bez výjimky přenašečkami, zatímco všichni synové budou zdraví, protože po otcích zdědí chromozom Y.

Autozomálně dominantní dědičnost

Autozomálně dominantní dědičnost znamená, že k projevu daného onemocnění stačí pouze jedna kopie abnormálního genu. U FA se autozomálně dominantní způsob dědičnosti vyskytuje pouze u PV genu FANCR/RAD51. Ačkoli u všech dosud hlášených postižených jedinců šlo o PV typu de novo (tj. tento stav nebyl zděděn od postiženého rodiče), mělo by být rodičům i tak nabídnuto vyšetření. I kdyby byl výsledek tohoto testu negativní, nelze vyloučit gonadální (zárodečný) mozaicismus; stále tedy existuje malá šance, že by mohli být postiženi sourozenci nebo případné budoucí těhotenství. Proto by všichni sourozenci měli podstoupit test na chromozomální zlomy a u každého, u koho bude výsledek pozitivní, se předpokládá, že trpí FA. Každé dítě osoby s FA spojenou s FANCR/RAD51 má 50 % pravděpodobnost, že bude trpět FA, a 50 % pravděpodobnost, že FA trpět nebude.

Riziko vzniku rakoviny u nosičů

Geny odpovědné za Fanconiho anémii a dědičné formy rakoviny kódují proteiny, které působí v rámci společné signální dráhy, nazývané opravná dráha DNA FA. Tyto proteiny společně přispívají k udržení integrity genomu tím, že opravují mezilátkové křížové vazby v DNA, což je jeden z typů poškození DNA (viz kapitola 1) [7, 142]. Vývoj nových poznatků vede k rychlým změnám v odhadech rizika vzniku rakoviny u nosičů (heterozygotů) jedné PV v genu FANCR [7]. Národní síť pro komplexní léčbu rakoviny (NCCN) pravidelně vyhodnocuje nejnovější odbornou literaturu a poskytuje aktualizované klinické postupy pro včasné odhalení, prevenci a snižování rizika vzniku nádorových onemocnění spojených s těmito geny [143]. Je důležité si uvědomit, že panelové testy některých laboratoří mohou zahrnovat geny FANCR (zejména geny se středním rizikem), u nichž nejsou k dispozici dostatečné údaje k úplnému určení míry rizika a k navržení strategií léčby [144, 145, 146].

U osob s pozitivním výsledkem testu na přítomnost PV v jednom z genů FANCR uvedených v tabulce 4 (alespoň v době vydání tohoto článku), existuje podle NCCN určité riziko vzniku rakoviny.

Tabulka 4. Rizika vzniku rakoviny u nosičů, která by mohla mít vliv na léčbu.

Gen FANC	Prokázané riziko vzniku rakoviny u nosičů	Další odkazy
FANCD1/BRCA2*	Rakovina prsu, vaječníků, prostaty, slinivky, melanom	[143, 147, 148]
FANCJ/BRIP1/BACH1	Rakovina vaječníků	[146, 149, 150]
FANCN/PALB2	Rakovina prsu, slinivky, vaječníků	[146, 147, 150-157]
FANCO/RAD51C	Rakovina vaječníků, prsu	[150, 158-163]
FANCS/BRCA1*	Rakovina prsu, vaječníků, prostaty, slinivky	[143, 147, 150, 164]

**Byly zaznamenány hypomorfnní varianty.*

Zdroje použité pro tabulku 4: [143, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164]

Možnost zvýšeného rizika vzniku rakoviny u nosičů jiných genů FANC je tématem, které vzbuzuje velký zájem a je předmětem pokračujícího výzkumu. V průběhu let využívali vědci údaje z rodin s FA k porovnání pozorovaného počtu případů rakoviny u nosičů jiných PV FANC s odhadovanou incidencí rakoviny v obecné populaci. Tyto studie, které měly omezený rozsah a zaměřovaly se na sběr údajů získaných na základě vlastních údajů respondentů, neprokázaly významný rozdíl v celkovém riziku vzniku rakoviny u těchto nosičů [165, 166, 167, 168, 169].

Všichni nosiči FA by měli být vybízeni k tomu, aby o svém genetickém stavu informovali své ošetřující lékaře a každoročně se podrobovali kontrolám kvůli případným změnám v oblasti zdravotních rizik a rizika vzniku rakoviny. Pro přesné posouzení rizika a komplexní konzultaci ohledně testování, možností léčby a plánování rodičovství se doporučuje obrátit se na genetického poradce specializujícího se na predispozice k rakovině.

Plánování rodičovství

Rodiče dítěte s FA i samotní nemocní mají, pokud jde o plánování rodičovství, k dispozici několik možností. Rodinám je k dispozici genetické poradenství před početím, v rámci kterého mohou tyto možnosti podrobněji prodiskutovat.

Prenatální diagnostické testy

Pokud v těhotenství existují obavy z Fanconiho anémie (FA), ať už na základě rodinné anamnézy, nebo na základě ultrazvukových nálezů, lze provést prenatální diagnostické vyšetření, aby se zjistilo, zda plod trpí FA. Prenatální

vyšetření lze rovněž využít k zjištění, zda má plod stejné lidské leukocytární antigeny (HLA) jako sourozenec s FA. Tento proces, známý jako HLA typizace, určí, zda je dítě vhodným dárce pro sourozence s FA, a pokud ano, zda by mohlo být prospěšné uložení pupečnickové krve. Mezi možnosti prenatalního vyšetření v současné době patří odběr choriových klků (CVS) nebo amniocentéza. CVS se obvykle provádí mezi 10. a 14. týdnem těhotenství a amniocentéza může být provedena po 15. týdnu těhotenství. Cílem obou postupů je získání buněk plodu pro genetické testování a/nebo analýzu chromozomálních zlomů. Jsou-li známy patogenní varianty, měla by se u těchto vzorků provést cílená analýza variant, zatímco analýzu chromozomálních zlomů lze provést v případě, že patogenní varianty nejsou známy a na základě ultrazvukových nálezů existuje podezření na FA. V některých centrech jsou k dispozici novější vyšetřovací metody, mezi něž patří genetické testování pomocí multigenových panelů, celoxomové sekvenování nebo celogenomové sekvenování. Tyto testy mohou být nabídnuty v případě, že nejsou známy žádné familiární varianty způsobující onemocnění a v těhotenství se objeví podezření na danou diagnózu. Jak CVS, tak amniocentéza jsou invazivní zákroky, ačkoliv jsou spojeny s rizikem potratu nižším než 1 %, což by mělo být podrobně projednáno s centrem, které zákrok provádí [170, 171]. Je důležité prodiskutovat různé aspekty a složitosti tohoto vyšetření s prenatalním genetickým poradcem a zkušeným gynekologem-porodníkem.

Prenatální diagnostika FA umožňuje lepší informování a přípravu rodiny pacienta i lékařského týmu. To zahrnuje dát rodině pacienta možnost rozhodovat o otázkách spojených s reprodukcí, včetně rozhodnutí o pokračování těhotenství nebo jeho přerušení, je-li to možné. Dále umožňuje podrobnější sledování těhotenství, zajištění péče ze strany vhodného lékařského týmu a/nebo možnost provedení zákroků, jsou-li k dispozici. Kromě toho by v budoucnu mohla existovat možnost fetální terapie (pro více informací se obraťte na Dr. Czechowicze ze Stanford Children's). Některé rodiny však mohou mít proti prenatalní diagnostice výhrady, zejména pokud mají obavy ohledně rizik tohoto zákroku nebo pokud by to nemělo vliv na jejich další počínání. Jedná se o velmi osobní rozhodování a rodiny by při těchto rozhodnutích měly mít veškerou podporu. Pokud se rodiče nerozhodnou pro prenatalní diagnostiku, ale mají obavy z FA, lze provést vyšetření novorozence formou analýzy chromozomálních zlomů a/nebo genetického testování z pupečnickové nebo periferní krve.

Prenatální péče

V případě, že prenatalní diagnostika potvrdí FA, je důležité, aby rodina absolvovala důkladné genetické poradenství a výsledky prodiskutovala se zkušeným genetickým poradcem, specialistou na fetální medicínu (MFM) a lékařem specializujícím se na FA. Onemocnění FA se může projevovat velmi různě, a proto je důležité pečlivé sledování těhotenství, aby bylo možné posoudit, jakým způsobem může FA ovlivňovat plod. Lze zvážit častější ultrazvuková vyšetření

plodu, echokardiografii a/nebo magnetickou rezonanci. Výsledky tohoto screeningového vyšetření mohou následně posloužit jako podklad pro doporučení ohledně péče během těhotenství a plánování porodu. Pokud se při prenatalním screeningu objeví známky vysokého rizika, může být velmi důležité родit v nemocnici se špičkovou novorozeneckou JIP. Lze zvážit také uložení pupečnickové krve, což je však nejvýhodnější v případě zdravého plodu, kde tato krev může posloužit jako dárcovská pro sourozence s FA. U plodu s FA v současné době neexistují žádné možnosti genetické korekce pupečnickové krve a většina vzorků pupečnickové krve se využívá pro výzkumné účely. Poporodní péči by měl řídit specializovaný pediatr ve spolupráci se zkušeným hematologem. Doporučuje se také zajistit péči v centru, které má zkušenosti s FA. Mezi obecná doporučení patří posouzení dopadu onemocnění FA, informování o FA a dostupných možnostech léčby, sledování krevního obrazu a první vyšetření kostní dřeně ve věku 2 let (viz další kapitoly těchto doporučení).

In vitro fertilizace s preimplantačním genetickým testováním

In vitro fertilizace (IVF) je reprodukční technologie, při které dochází k oplodnění zralého vajíčka (ovum) spermií v laboratoři za účelem získání embrya. Embryo je poté implantováno, aby se zahájilo těhotenství. Tuto technologii často využívají jednotlivci a páry potýkající se s neplodností; lze ji však také kombinovat s další metodou, a to s preimplantačním genetickým testováním (PGT) zaměřeným na monogenní poruchy, jehož cílem je vyšetřit embrya získaná pomocí IVF na přítomnost familiárních genetických poruch. Ačkoli se PGT používá k výběru embryí bez FA a těch, která jsou HLA-kompatibilní s postiženým sourozencem, tato technologie není při výběru embryí splňujících uvedená kritéria vždy úspěšná. Centra provádějící PGT by měla rodiny informovat o svých zkušenostech a přesnosti výsledků.

Rodiče, kteří zvažují PGT, by měli být informováni o šancích na výběr zdravého embrya s kompatibilitou HLA. Teoreticky platí, že u párů s dítětem trpícím autozomálně recesivní formou FA je 75 % pravděpodobnost, že embryo nebude postiženo FA, a 25 % pravděpodobnost, že embryo bude HLA-kompatibilní; pravděpodobnost, že embryo nebude postiženo FA a zároveň bude HLA-kompatibilní, tedy činí 18,75 % (3/16). V praxi je u mnoha párů zapotřebí několik cyklů IVF-PGT, aby bylo dosaženo klinického těhotenství vedoucího k narození živého dítěte. Rovněž se doporučuje provádět prenatalní vyšetření u všech těhotenství, kdy embrya vznikla metodou IVF-PGT, aby se potvrdil očekávaný genetický stav.

Další možnosti reprodukce

Mezi další možnosti reprodukce patří využití dárcovských pohlavních buněk (vajíček nebo spermií), adopce a přirozené otěhotnění. Další možností je také

náhradní mateřství, zejména pro ženy s FA, které mají potíže s plodností nebo se obávají zdravotních rizik spojených s těhotenstvím.



Shrnutí

Pro stanovení diagnózy FA a zajištění optimální péče o pacienty s tímto onemocněním je zásadní úzká spolupráce mezi lékaři, genetickými poradci, cytogenetickými laboratořemi a laboratořemi molekulární genetiky. Včasná diagnostika FA a identifikace patogenních variant FA specifických pro daného pacienta mají zásadní význam, neboť tyto informace mohou ovlivnit léčbu a následnou péči o pacienty a jejich rodiny. Je naprosto nezbytné, aby diagnostické testy prováděla klinicky certifikovaná laboratoř, aby bylo zajištěno dodržování přísných norem pro kontrolu a zajištění kvality. Všechny cytogenetické nálezy je třeba vykládat v kontextu úplného hematologického profilu pacienta a dalších klinických projevů, aby bylo možné získat komplexní posouzení stavu pacienta. Doporučuje se, aby diagnostické genetické testování proběhlo pod vedením genetického poradce nebo jiného odborníka v oboru genetiky. Pacientovi a jeho rodině by měl být sdělen komplexní přehled genetických nálezů, včetně fenotypu a rizik vzniku rakoviny spojených s určitými geny FANC, jakož i dopadů na zdraví a reprodukční schopnosti dalších příbuzných. Součástí rodinného poradenství by mělo být seznámení s různými možnostmi v oblasti reprodukce, které jsou k dispozici rodinám, které již mají dítě s FA, i osobám s FA, které si přejí mít děti.

Nadace Fanconi Cancer Foundation oceňuje příspěvky těchto autorů:

Části týkající se diagnostiky a hodnocení souvislostí mezi genotypem a fenotypem:

Jeffrey Lipton, MD, PhD

Moisés Fiesco-Roa, MD, MSc, PhD(c)

Části týkající se diagnostických a somatických testů:

Susan Olson, PhD, FACMG

Lisa Moreau, MS

Akiko Shimamura, MD, PhD

Části týkající se genetického poradenství, genetických variant a diagnostických testů:

Rebecca Tryon, MS, MA, CGC*

Jennifer Kennedy, MS, CGC

Část věnovaná prenatalní péči:

Agnieszka Czechowicz, MD, PhD

Upravila Shelby Sharp, PhD

*Předsedkyně odborné komise

Použitá literatura

1. Rosenberg et al., How high are carrier frequencies of rare recessive syndromes? Contemporary estimates for Fanconi Anemia in the United States and Israel. *Am J Med Genet A*, 2011. 155A(8): str. 1877-1883.
2. Fiesco-Roa et al., Dysmorphology as a clinical tool for an early diagnosis of Fanconi Anemia. *Acta Pediatr Mex*, 2022. 43(2): str. 129-410.
3. Parikh a Bessler, Recent insights into inherited bone marrow failure syndromes. *Curr Opin Pediatr*, 2012. 24(1): str. 23-32.
4. Shimamura a Alter, Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev*, 2010. 24(3): str. 101-122.
5. Svahn et al., Somatic, hematologic phenotype, long-term outcome, and effect of hematopoietic stem cell transplantation. An analysis of 97 Fanconi anemia patients from the Italian national database on behalf of the Marrow Failure Study Group of the AIEOP (Italian Association of Pediatric Hematology-Oncology). *Am J Hematol*, 2016. 91(7): str. 666-671.

6. Auerbach, Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutat Res*, 2009. 668(1-2): str. 4-10.
7. Fiesco-Roa et al., Fanconi anemia and dyskeratosis congenita/telomere biology disorders: Two inherited bone marrow failure syndromes with genomic instability. *Frontiers in Oncology*, 2022.12: str. 949435.
8. Solomon et al., Clinical geneticists' views of VACTERL/VATER association. *Am J Med Genet A*, 2012. 158A(12): str. 3087-3100.
9. Fiesco-Roa et al., Genotype-phenotype associations in Fanconi anemia: A literature review. *Blood Rev*, 2019: p. 100589.
10. Alter a Giri, Thinking of VACTERL-H? Rule out Fanconi Anemia according to PHENOS. *Am J Med Genet A*, 2016. 170(6): str. 1520-1524.
11. Faivre et al., Should chromosome breakage studies be performed in patients with VACTERL association? *Am J Med Genet A*, 2005. 137(1): str. 55-58.
12. Risitano et al., Twenty years of the Italian Fanconi Anemia Registry: where we stand and what remains to be learned. *Haematologica*, 2016. 101(3): str. 319-327.
13. Mahmood et al., An experience with 124 cases of fanconi anemia: clinical spectrum, hematological parameters and chromosomal breakage analysis. *Am J Blood Res*, 2021. 11(5): str. 498-503.
14. Mori et al., Pathogenic mutations identified by a multimodality approach in 117 Japanese Fanconi anemia patients. *Haematologica*, 2019. 104(10): str. 1962-1973.
15. De Kerviler et al., The clinical and radiological features of Fanconi's anaemia. *Clin Radiol*, 2000. 55(5): str. 340-345.
16. Aksu et al., Central nervous system lesions in Fanconi anemia: Experience from a research center for Fanconi anemia patients. *Pediatr Blood Cancer*, 2020. 67(12): str. e28722.
17. George et al., A comprehensive molecular study identified 12 complementation groups with 56 novel FANC gene variants in Indian Fanconi anemia subjects. *Hum Mutat*, 2021. 42(12): str. 1648-1665.
18. Johnson-Tesch et al., Fanconi anemia: correlating central nervous system malformations and genetic complementation groups. *Pediatr Radiol*, 2017. 47(7): str. 868-876.
19. Stivaros et al., Central nervous system abnormalities in Fanconi anaemia: patterns and frequency on magnetic resonance imaging. *Br J Radiol*, 2015. 88(1056): str. 20150088.
20. Tsilou et al., Ocular and orbital manifestations of the inherited bone marrow failure syndromes: Fanconi anemia and dyskeratosis congenita. *Ophthalmology*, 2010. 117(3): str. 615-622.
21. Richards et al., Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*, 2015. 17(5): str. 405-424.
22. Auerbach, Fanconi anemia diagnosis and the diepoxybutane (DEB) test. *Exp Hematol*, 1993. 21(6): str. 731-733.
23. Auerbach, Diagnosis of Fanconi anemia by diepoxybutane analysis. *Curr Protoc Hum Genet*, 2015. 85: str. 8.7.1-8.7.17.

24. Castella et al., Chromosome fragility in patients with Fanconi anaemia: diagnostic implications and clinical impact. *J Med Genet*, 2011. 48(4): str. 242-250.
25. ACMG. Practice Guidelines. 2020; Dostupné na: <https://www.acmg.net/ACMG/Medical-Genetics-Practice-Resources/Practice-Guidelines.aspx>.
26. Hirsch et al., Association of biallelic BRCA2/FANCD1 mutations with spontaneous chromosomal instability and solid tumors of childhood. *Blood*, 2004. 103(7): str. 2554-2559.
27. Chrzanowska, K.H., et al., Nijmegen breakage syndrome (NBS). *Orphanet J Rare Dis*, 2012. 7: str. 13.
28. Martin et al., Mutations in TOP3A Cause a Bloom Syndrome-like Disorder. *Am J Hum Genet*, 2018. 103(2): str. 221-231.
29. McKay et al., A Roberts Syndrome Individual With Differential Genotoxin Sensitivity and a DNA Damage Response Defect. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2019. 103(5): str. 1194-1202.
30. Terabayashi a Hanada, Genome instability syndromes caused by impaired DNA repair and aberrant DNA damage responses. *Cell Biol Toxicol*, 2018. 34(5): str. 337-350.
31. van der Lelij et al., Diagnostic Overlap between Fanconi Anemia and the Cohesinopathies: Roberts Syndrome and Warsaw Breakage Syndrome. *Anemia*, 2010. 2010: str. 565268.
32. Wu, Phenotypes and genotypes of the chromosomal instability syndromes. *Transl Pediatr*, 2016. 5(2): str. 79-83.
33. Aguilar-Martinez et al., Cytogenetic abnormalities in dyskeratosis congenita--report of five cases. *Clin Exp Dermatol*, 1988. 13(2): str. 100-104.
34. Molina et al., Fanconi anemia, Part 1. Cytogenetic diagnosis. *Acta Pediatr Mex*, 2022. 43(2): str. 102-128.
35. Auerbach et al., Prenatal and postnatal diagnosis and carrier detection of Fanconi anemia by a cytogenetic method. *Pediatrics*, 1981. 67(1): str. 128-135.
36. Cervenka a Hirsch, Cytogenetic differentiation of Fanconi anemia, "idiopathic" aplastic anemia, and Fanconi anemia heterozygotes. *Am J Med Genet*, 1983. 15(2): str. 211-223.
37. Technologists., A.o.C., The AGT cytogenetics laboratory manual. 3. vyd. / ed, ed. M.J. Barch, T. Knutsen a J.L. Spurbeck. 1997, Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.
38. Nicoletti et al., Mosaicism in Fanconi anemia: concise review and evaluation of published cases with focus on clinical course of blood count normalization. *Ann Hematol*, 2020. 99(5): str. 913-924.
39. Gille et al., Diagnosis of Fanconi Anemia: Mutation Analysis by Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification and PCR-Based Sanger Sequencing. *Anemia*, 2012. 2012: str. 603253.
40. Knies et al., Genotyping of fanconi anemia patients by whole exome sequencing: advantages and challenges. *PLoS One*, 2012. 7(12): str. e52648.
41. Cheung a Taniguchi, Recent insights into the molecular basis of Fanconi anemia: genes, modifiers, and drivers. *Int J Hematol*, 2017. 106(3): str. 335-344.

42. Tsui a Crismani, The Fanconi Anemia Pathway and Fertility. *Trends Genet*, 2019. 35(3): str. 199-214.
43. Chandrasekharappa et al., Massively parallel sequencing, aCGH, and RNA-Seq technologies provide a comprehensive molecular diagnosis of Fanconi anemia. *Blood*, 2013. 121(22): str. e138-148.
44. Flynn et al., Comprehensive Analysis of Pathogenic Deletion Variants in Fanconi Anemia Genes. 2014. 35(11): str. 1342-1353.
45. Winberg et al., Mutation screening and array comparative genomic hybridization using a 180K oligonucleotide array in VACTERL association. *PLoS One*, 2014. 9(1): str. e85313.
46. Li et al., Functional analysis of Fanconi anemia mutations in China. *Exp Hematol*, 2018. 66: str. 32-41 e8.
47. Pilonetto et al., A strategy for molecular diagnostics of Fanconi anemia in Brazilian patients. *Mol Genet Genomic Med*, 2017. 5(4): str. 360-372.
48. Xue et al., Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exome/genome sequencing. *Genet Med*, 2015. 17(6): str. 444-451.
49. (OHRP), O.f.H.R.P. Genetic Information Nondiscrimination Act (GINA): OHRP Guidance. 2009 24. března 2009; K dispozici na: <https://www.hhs.gov/ohrp/regulations-and-policy/guidance/guidance-on-genetic-information-nondiscrimination-act/index.html>.
50. University, J.H., Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. MIM: #612555. <https://www.omim.org/entry/612555>.
51. Kalia et al., Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genetics In Medicine*, 2016. 19: str. 249.
52. Gregory et al., Somatic mosaicism in Fanconi anemia: evidence of genotypic reversion in lymphohematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. 98(5): str. 2532-2537.
53. Ikeda et al., Genetic reversion in an acute myelogenous leukemia cell line from a Fanconi anemia patient with biallelic mutations in BRCA2. *Cancer Res*, 2003. 63(10): str. 2688-2694.
54. Cioc et al., Diagnosis of myelodysplastic syndrome among a cohort of 119 patients with fanconi anemia: morphologic and cytogenetic characteristics. *Am J Clin Pathol*, 2010. 133(1): str. 92-100.
55. Mehta et al., Numerical chromosomal changes and risk of development of myelodysplastic syndrome—acute myeloid leukemia in patients with Fanconi anemia. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010. 203(2): str. 180-186.
56. Meyer et al., Chromosomal aberrations associated with clonal evolution and leukemic transformation in fanconi anemia: clinical and biological implications. *Anemia*, 2012. 2012: str. 349837.
57. Rochowski et al., Patients with Fanconi anemia and AML have different cytogenetic clones than de novo cases of AML. *Pediatr Blood Cancer*, 2012. 59(5): str. 922-924.

58. Tonnies et al., Clonal chromosomal aberrations in bone marrow cells of Fanconi anemia patients: gains of the chromosomal segment 3q26q29 as an adverse risk factor. *Blood*, 2003. 101(10): str. 3872-3874.
59. Faivre et al., Association of complementation group and mutation type with clinical outcome in fanconi anemia. European Fanconi Anemia Research Group. *Blood*, 2000. 96(13): str. 4064-4070.
60. Castella et al., Origin, functional role, and clinical impact of Fanconi anemia FANCA mutations. *Blood*, 2011. 117(14): str. 3759-3769.
61. Steinberg-Shemer et al., Characterization and genotype-phenotype correlation of patients with Fanconi anemia in a multi-ethnic population. *Haematologica*, 2020. 105(7): str. 1825-1834.
62. Bottega et al., Hypomorphic FANCA mutations correlate with mild mitochondrial and clinical phenotype in Fanconi anemia. *Haematologica*, 2018. 103(3): str. 417-426.
63. McCauley et al., X-linked VACTERL with hydrocephalus syndrome: further delineation of the phenotype caused by FANCB mutations. *Am J Med Genet A*, 2011. 155A(10): str. 2370-2380.
64. Mikat et al., X-linked recessive VACTERL-H due to a mutation in FANCB in a preterm boy. *Clin Dysmorphol*, 2016. 25(2): str. 73-76.
65. Asur et al., Somatic mosaicism of an intragenic FANCB duplication in both fibroblast and peripheral blood cells observed in a Fanconi anemia patient leads to milder phenotype. *Mol Genet Genomic Med*, 2018. 6(1): str. 77-91.
66. Jung et al., Clinical severity in Fanconi anemia correlates with residual function of FANCB missense variants. *bioRxiv*, 2019. 772574.
67. Kutler et al., A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR). *Blood*, 2003. 101(4): str. 1249-1256.
68. Gillio et al., Phenotypic consequences of mutations in the Fanconi anemia FAC gene: an International Fanconi Anemia Registry study. *Blood*, 1997. 90(1): str. 105-110.
69. Yamashita et al., Clinical variability of Fanconi anemia (type C) results from expression of an amino terminal truncated Fanconi anemia complementation group C polypeptide with partial activity. *Blood*, 1996. 87(10): str. 4424-4432.
70. Aftab et al., Analysis of FANCC gene mutations (IVS4+4A>T, del322G, and R548X) in patients with Fanconi anemia in Pakistan. *Turk J Med Sci*, 2017. 47(2): str. 391-398.
71. Rodriguez et al., Molecular analysis of the most prevalent mutations of the FANCA and FANCC genes in Brazilian patients with Fanconi anaemia. *Genetics and Molecular Biology*, 2005. 28: str. 205-209.
72. Futaki et al., The IVS4 + 4 A to T mutation of the fanconi anemia gene FANCC is not associated with a severe phenotype in Japanese patients. *Blood*, 2000. 95(4): str. 1493-1498.
73. de Vries et al., A Dutch Fanconi Anemia FANCC Founder Mutation in Canadian Manitoba Mennonites. *Anemia*, 2012. 2012: str. 865170.
74. Hartmann et al., Correct mRNA processing at a mutant TT splice donor in FANCC ameliorates the clinical phenotype in patients and is enhanced by delivery of suppressor U1 snRNAs. *Am J Hum Genet*, 2010. 87(4): str. 480-493.
75. Howlett et al., Biallelic inactivation of BRCA2 in Fanconi anemia. *Science*, 2002. 297.

76. Alter et al., Clinical and molecular features associated with biallelic mutations in FANCD1/BRCA2. *J Med Genet*, 2007. 44(1): str. 1-9.
77. Offit, BRCA mutation frequency and penetrance: new data, old debate. *J Natl Cancer Inst*, 2006. 98(23): str. 1675-1677.
78. Wagner et al., Germline mutations in BRCA2: shared genetic susceptibility to breast cancer, early onset leukemia, and Fanconi anemia. *Blood*, 2004. 103(8): str. 3226-3229.
79. McReynolds et al., Genotype-cancer association in patients with Fanconi anemia due to pathogenic variants in FANCD1 (BRCA2) or FANCN (PALB2). *Cancer Genet*, 2021. 258-259: str. 101-109.
80. Degrolard-Courcet et al., Development of primary early-onset colorectal cancers due to biallelic mutations of the FANCD1/BRCA2 gene. *Eur J Hum Genet*, 2014. 22(8): str. 979-987.
81. Rickman an Smogorzewska, Advances in understanding DNA processing and protection at stalled replication forks. *J Cell Biol*, 2019. 218(4): str. 1096-1107.
82. Weinberg-Shukron et al., Essential Role of BRCA2 in Ovarian Development and Function. *N Engl J Med*, 2018. 379(11): str. 1042-1049.
83. Ip et al., Catastrophic chemotherapy toxicity leading to diagnosis of Fanconi anaemia due to FANCD1/BRCA2 during adulthood: description of an emerging phenotype. *J Med Genet*, 2021. 59(9):912-915.
84. Caburet et al., Homozygous hypomorphic BRCA2 variant in primary ovarian insufficiency without cancer or Fanconi anaemia trait. *J Med Genet*, 2020.
85. Qin et al., BRCA2 in Ovarian Development and Function. *N Engl J Med*, 2019. 380(11): str. 1086.
86. Meetei et al., A human ortholog of archaeal DNA repair protein Hef is defective in Fanconi anemia complementation group M. *Nat Genet*, 2005. 37(9): str. 958-963.
87. Singh et al., Impaired FANCD2 monoubiquitination and hypersensitivity to camptothecin uniquely characterize Fanconi anemia complementation group M. *Blood*, 2009. 114(1): str. 174-80.
88. Bogliolo et al., Biallelic truncating FANCM mutations cause early-onset cancer but not Fanconi anemia. *Genet Med*, 2018. 20(4): str. 458-463.
89. Catucci et al., Individuals with FANCM biallelic mutations do not develop Fanconi anemia, but show risk for breast cancer, chemotherapy toxicity and may display chromosome fragility. *Genet Med*, 2018. 20(4): str. 452-457.
90. Chang et al., Whole exome sequencing reveals concomitant mutations of multiple FA genes in individual Fanconi anemia patients. *BMC Med Genomics*, 2014. 7: str. 24.
91. Fouquet et al., A homozygous FANCM mutation underlies a familial case of non-syndromic primary ovarian insufficiency. *Elife*, 2017. 6.
92. Yin et al., A homozygous FANCM frameshift pathogenic variant causes male infertility. *Genet Med*, 2019. 21(1): str. 62-70.
93. Zhang et al., Novel Bi-Allelic Variants of FANCM Cause Sertoli Cell-Only Syndrome and Non-Obstructive Azoospermia. *Front Genet*, 2021. 12: str. 799886.
94. Encarnacion et al., Fanconi-like anemia related to a FANCM mutation. *Eur J Med Genet*, 2022. 65(1): str. 104399.

95. Reid, S., et al., Biallelic mutations in PALB2 cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer. *Nat Genet*, 2007. 39(2): str. 162-164.
96. Ghazwani et al., Clinical characteristics and genetic subtypes of Fanconi anemia in Saudi patients. *Cancer Genet*, 2016. 209(4): str. 171-176.
97. Serra et al., Shared Copy Number Variation in Simultaneous Nephroblastoma and Neuroblastoma due to Fanconi Anemia. *Mol Syndromol*, 2012. 3(3): str. 120-130.
98. Byrd et al., A Hypomorphic PALB2 Allele Gives Rise to an Unusual Form of FA-N Associated with Lymphoid Tumour Development. *PLoS Genet*, 2016. 12(3): str. e1005945.
99. Jacquinet et al., Expanding the FANCO/RAD51C associated phenotype: Cleft lip and palate and lobar holoprosencephaly, two rare findings in Fanconi anemia. *Eur J Med Genet*, 2018. 61(5): str. 257-261.
100. Vaz et al., Mutation of the RAD51C gene in a Fanconi anemia-like disorder. *Nat Genet*, 2010. 42(5): str. 406-409.
101. Ameziane et al., A novel Fanconi anaemia subtype associated with a dominant-negative mutation in RAD51. *Nat Commun*, 2015. 6: str. 8829.
102. Wang et al., A Dominant Mutation in Human RAD51 Reveals Its Function in DNA Interstrand Crosslink Repair Independent of Homologous Recombination. *Mol Cell*, 2015. 59(3): str. 478-490.
103. Depienne et al., RAD51 haploinsufficiency causes congenital mirror movements in humans. *Am J Hum Genet*, 2012. 90(2): str. 301-307.
104. Trouillard et al., Congenital Mirror Movements Due to RAD51: Cosegregation with a Nonsense Mutation in a Norwegian Pedigree and Review of the Literature. *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y)*, 2016. 6: str. 424.
105. Demirayak et al., Abnormal subcortical activity in congenital mirror movement disorder with RAD51 mutation. *Diagn Interv Radiol*, 2018. 24(6): str. 392-401.
106. University, J.H., Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. MIM: #614508. <https://www.omim.org/entry/614508>.
107. Bogliolo et al., Mutations in ERCC4, encoding the DNA-repair endonuclease XPF, cause Fanconi anemia. *Am J Hum Genet*, 2013. 92(5): str. 800-806.
108. Kashiyaama et al., Malfunction of nuclease ERCC1-XPF results in diverse clinical manifestations and causes Cockayne syndrome, xeroderma pigmentosum, and Fanconi anemia. *Am J Hum Genet*, 2013. 92(5): str. 807-819.
109. Niedernhofer et al., A new progeroid syndrome reveals that genotoxic stress suppresses the somatotroph axis. *Nature*, 2006. 444(7122): str. 1038-1043.
110. Sijbers et al., Xeroderma pigmentosum group F caused by a defect in a structure-specific DNA repair endonuclease. *Cell*, 1996. 86(5): str. 811-822.
111. Domchek et al., Biallelic Deleterious BRCA1 Mutations in a Woman with Early-Onset Ovarian Cancer. 2013. 3(4): str. 399-405.
112. Sawyer et al., Biallelic mutations in BRCA1 cause a new Fanconi anemia subtype. *Cancer Discov*, 2015. 5(2): str. 135-142.
113. Seo et al., Mechanism for survival of homozygous nonsense mutations in the tumor suppressor gene *BRCA1*. 2018. 115(20): str. 5241-5246.

114. Freire et al., Homozygous loss of function BRCA1 variant causing a Fanconi-anemia-like phenotype, a clinical report and review of previous patients. *Eur J Med Genet*, 2018. 61(3): str. 130-133.
115. Chirita-Emandi et al., Biallelic variants in BRCA1 gene cause a recognisable phenotype within chromosomal instability syndromes reframed as BRCA1 deficiency. *J Med Genet*, 2021. 58(9): str. 648-652.
116. Keupp et al., Biallelic germline BRCA1 mutations in a patient with early onset breast cancer, mild Fanconi anemia-like phenotype, and no chromosome fragility. *Mol Genet Genomic Med*, 2019. 7(9): str. e863.
117. Callen et al., A common founder mutation in FANCA underlies the world's highest prevalence of Fanconi anemia in Gypsy families from Spain. *Blood*, 2005. 105(5): str. 1946-1949.
118. Tipping et al., Molecular and genealogical evidence for a founder effect in Fanconi anemia families of the Afrikaner population of South Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. 98(10): str. 5734-5739.
119. Rosendorff et al., Fanconi anemia: another disease of unusually high prevalence in the Afrikaans population of South Africa. *Am J Med Genet*, 1987. 27(4): str. 793-797.
120. Park et al., FANCA and FANCG are the major Fanconi anemia genes in the Korean population. *Clin Genet*, 2013. 84(3): str. 271-275.
121. Yagasaki et al., Identification and characterization of novel mutations of the major Fanconi anemia gene FANCA in the Japanese population. *Hum Mutat*, 2004. 24(6): str. 481-490.
122. Amouri et al., High frequency of exon 15 deletion in the FANCA gene in Tunisian patients affected with Fanconi anemia disease: implication for diagnosis. *Mol Genet Genomic Med*, 2014. 2(2): str. 160-165.
123. Ben Haj Ali et al., FANCA Gene Mutations in North African Fanconi Anemia Patients. *Front Genet*, 2021. 12: str. 610050.
124. Tamary et al., Fanconi anaemia group A (FANCA) mutations in Israeli non-Ashkenazi Jewish patients. *Br J Haematol*, 2000. 111(1): str. 338-343.
125. Whitney et al., A common mutation in the FACC gene causes Fanconi anaemia in Ashkenazi Jews. *Nat Genet*, 1993. 4(2): str. 202-205.
126. Verlander et al., Carrier frequency of the IVS4 + 4 A→T mutation of the Fanconi anemia gene FAC in the Ashkenazi Jewish population. *Blood*, 1995. 86(11): str. 4034-4038.
127. Garcia-de Teresa et al., FANCC Dutch founder mutation in a Mennonite family from Tamaulipas, Mexico. *Mol Genet Genomic Med*, 2019. 7(6): str. e710.
128. Hadjisavvas et al., Hereditary breast and ovarian cancer in Cyprus: identification of a founder BRCA2 mutation. *Cancer Genet Cytogenet*, 2004. 151(2): str. 152-156.
129. Loizidou et al., Fanconi anemia-D1 due to homozygosity for the BRCA2 gene Cypriot founder mutation: A case report. *Oncol Lett*, 2016. 11(1): str. 471-473.
130. Roa et al., Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2. *Nat Genet*, 1996. 14(2): str. 185-187.
131. Kalb et al., Hypomorphic mutations in the gene encoding a key Fanconi anemia protein, FANCD2, sustain a significant group of FA-D2 patients with severe phenotype. *Am J Hum Genet*, 2007. 80(5): str. 895-910.

132. Morgan et al., A common Fanconi anemia mutation in black populations of sub-Saharan Africa. *Blood*, 2005. 105(9): str. 3542-3544.
133. Yagasaki et al., Two common founder mutations of the fanconi anemia group G gene FANCG/XRCC9 in the Japanese population. *Hum Mutat*, 2003. 21(5): str. 555.
134. Auerbach et al., Spectrum of sequence variation in the FANCG gene: an International Fanconi Anemia Registry (IFAR) study. *Hum Mutat*, 2003. 21(2): str. 158-168.
135. Reyes et al., Fanconi Anemia Patients from an Indigenous Community in Mexico Carry a New Founder Pathogenic Variant in FANCG. *Int J Mol Sci*, 2022. 23(4).
136. Demuth et al., Spectrum of mutations in the Fanconi anaemia group G gene, FANCG/XRCC9. *Eur J Hum Genet*, 2000. 8(11): str. 861-868.
137. Park et al., Founder haplotype analysis of Fanconi anemia in the Korean population finds common ancestral haplotypes for a FANCG variant. *Ann Hum Genet*, 2015. 79(3): str. 153-161.
138. Donovan et al., A founder variant in the South Asian population leads to a high prevalence of FANCL Fanconi anemia cases in India. *Hum Mutat*, 2020. 41(1): str. 122-128.
139. Donovan et al., Paternal or Maternal Uniparental Disomy of Chromosome 16 Resulting in Homozygosity of a Mutant Allele Causes Fanconi Anemia. *Hum Mutat*, 2016. 37(5): str. 465-468.
140. Alter et al., Fanconi's anaemia and pregnancy. *Br J Haematol*, 1991. 77(3): str. 410-418.
141. Nabhan et al., Fertility recovery and pregnancy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anemia patients. *Haematologica*, 2010. 95(10): str. 1783-1787.
142. Kottemann a Smogorzewska, Fanconi anaemia and the repair of Watson and Crick DNA crosslinks. *Nature*, 2013. 493(7432): str. 356-363.
143. Gallagher et al., Germline BRCA mutations denote a clinicopathologic subset of prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 2010. 16(7): str. 2115-2121.
144. Easton et al., Gene-panel sequencing and the prediction of breast-cancer risk. *N Engl J Med*, 2015. 372(23): str. 2243-2257.
145. Network, N.C.C. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian. 2019 [citováno 2019 11/20/2019]; Verze 3.2010
146. Ramus et al., Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN Genes in Women With Ovarian Cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2015. 107(11).
147. Norquist et al., Inherited Mutations in Women With Ovarian Carcinoma. *JAMA Oncol*, 2016. 2(4): str. 482-490.
148. Tung et al., Frequency of Germline Mutations in 25 Cancer Susceptibility Genes in a Sequential Series of Patients With Breast Cancer. *J Clin Oncol*, 2016. 34(13): str. 1460-1468.
149. Rafnar et al., Mutations in BRIP1 confer high risk of ovarian cancer. *Nat Genet*, 2011. 43(11): str. 1104-1107.
150. Tung et al., Counselling framework for moderate-penetrance cancer-susceptibility mutations. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016. 13(9): str. 581-588.

151. Antoniou et al., Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med*, 2014. 371(6): str. 497-506.
152. Couch et al., Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *J Clin Oncol*, 2015. 33(4): str. 304-311.
153. Grant et al., Prevalence of germline mutations in cancer predisposition genes in patients with pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 2015. 148(3): str. 556-564.
154. Pritchard et al., Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. *N Engl J Med*, 2016. 375(5): str. 443-453.
155. Lilyquist et al., Frequency of mutations in a large series of clinically ascertained ovarian cancer cases tested on multi-gene panels compared to reference controls. *Gynecol Oncol*, 2017. 147(2): str. 375-380.
156. Kurian et al., Breast and Ovarian Cancer Penetrance Estimates Derived From Germline Multiple-Gene Sequencing Results in Women. *JCO Precis Oncol*, 2017. 1: str. 1-12.
157. Yang et al., Cancer Risks Associated With Germline PALB2 Pathogenic Variants: An International Study of 524 Families. *J Clin Oncol*, 2020. 38(7): str. 674-685.
158. Loveday et al., Germline RAD51C mutations confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet*, 2012. 44(5): p. 475-6; odpověď autora 476.
159. Song et al., Contribution of Germline Mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D Genes to Ovarian Cancer in the Population. *J Clin Oncol*, 2015. 33(26): str. 2901-2907.
160. Breast Cancer Association et al., Breast Cancer Risk Genes - Association Analysis in More than 113,000 Women. *N Engl J Med*, 2021. 384(5): str. 428-439.
161. Hu et al., The Contribution of Germline Predisposition Gene Mutations to Clinical Subtypes of Invasive Breast Cancer From a Clinical Genetic Testing Cohort. *J Natl Cancer Inst*, 2020. 112(12): str. 1231-1241.
162. Li et al., Combined Tumor Sequencing and Case-Control Analyses of RAD51C in Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2019. 111(12): str. 1332-1338.
163. Yang et al., Ovarian and Breast Cancer Risks Associated With Pathogenic Variants in RAD51C and RAD51D. *J Natl Cancer Inst*, 2020. 112(12): str. 1242-1250.
164. Leongamornlert et al., Germline BRCA1 mutations increase prostate cancer risk. *Br J Cancer*, 2012. 106(10): str. 1697-1701.
165. Alter et al., Cancer in Heterozygote Carriers of Fanconi Anemia Genes. *Blood*, 2018. 132: str. 3868-3868.
166. Berwick et al., Genetic heterogeneity among Fanconi anemia heterozygotes and risk of cancer. *Cancer Res*, 2007. 67(19): str. 9591-9596.
167. Swift et al., Reassessment of cancer predisposition of Fanconi anemia heterozygotes. *J Natl Cancer Inst*, 1980. 65(5): str. 863-867.
168. Tischkowitz et al., Cancer incidence in relatives of British Fanconi Anaemia patients. *BMC Cancer*, 2008. 8: str. 257.
169. McReynolds et al., Risk of cancer in heterozygous relatives of patients with Fanconi anemia. *Genet Med*, 2022. 24(1): str. 245-250.

170. Akolekar et al., Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015. 45(1): str. 16-26.
171. Likar et al., Pregnancy Loss After Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling: Cohort Study. *Zdr Varst*, 2020. 60(1): str. 25-29.

Kapitola 3

Klinická péče o pacienty s Fanconiho anémií: Hematologické problémy

Úvod

U pacientů s Fanconiho anémií (FA) se objevují hematologické komplikace související především se selháním kostní dřeně (BMF), zároveň u nich existuje zvýšené riziko vzniku myelodysplastického syndromu (MDS) a akutní myeloidní leukémie (AML). Selhání kostní dřeně a hematologická dysplazie u pacientů s FA jsou připisovány poruše opravného mechanismu DNA, která poškozuje hematopoetické kmenové a progenitorové buňky (viz kapitola 1). Tato kapitola poskytuje přehled hematologické péče o pacienty s FA, včetně obecných pokynů pro klinické sledování a rozhodovacího procesu při posuzování nutnosti transplantace hematopoetických buněk (HCT), která je jedinou osvědčenou kurativní léčbou hematologického onemocnění při FA [1]. Dále jsou probírány i alternativní terapeutické možnosti kromě HCT, jako je například genová terapie. Lékařská rozhodnutí týkající se hematologické péče o pacienty s FA by měla být přijímána po konzultaci s lékařem specializovaným na FA.

Selhání kostní dřeně

Selhání kostní dřeně (BMF) u pacientů s FA se může pohybovat od mírné, bezpříznakové cytopenie až po těžkou aplastickou anémii (AA). Absence BMF však nevylučuje diagnózu FA [2, 3].

Definice selhání kostní dřeně

Selhání kostní dřeně se diagnostikuje na základě hodnot krevního obrazu, které se nacházejí pod standardními rozmezími odpovídajícími danému věku, a často je doprovázeno makrocytózou. Ačkoli u mnoha pacientů dochází k progresi k AA, hematologické onemocnění u pacientů s FA se může značně lišit a u některých pacientů přetrvávají mírně abnormální hodnoty krevního obrazu po řadu let či dokonce desetiletí. Selhání kostní dřeně se dělí do tří hlavních kategorií v závislosti na stupni pozorované cytopenie (viz tabulka 1). Tato klasifikace vymezuje body, kde je třeba zvážit různé možnosti klinického postupu. Je důležité si uvědomit, že aby byla splněna tato kritéria pro diagnózu BMF, musí být cytopenie dlouhodobá, nikoli přechodná nebo sekundární k jiné léčitelné příčině, jako je infekce, užívání léků, destrukce či ztráta buněk periferní krve nebo nedostatek živin. Kritériem pro určení závažnosti cytopenie je nejnížší hodnota ze tří buněčných linií.

Tabulka 1. Závažnost selhání kostní dřeně.

Hodnoty periferní krve	Mírná	Středně těžká (nebo hypoplastická či aplastická anémie)	Těžká (nebo těžká aplastická anémie)
Absolutní počet neutrofilů	<1 500/mm ³	<1 000/mm ³	<500/mm ³
Počet krevních destiček	50 000 - 150 000/mm ³	<50 000/mm ³	<20 000/mm ³
Hemoglobin	≥8 g/dl*	<8 g/dl	<8 g/dl

*Méně než je u tohoto věku obvyklé, ale > 8 g/dl.

Zdroje použité pro tabulku 1: [2, 3]

Věk při vzniku selhání kostní dřeně

Věk, v němž se u pacientů s FA poprvé projeví BMF, se značně liší. U většiny pacientů se však příznaky alespoň mírné formy BMF začínají objevovat během prvního desetiletí života, a to v průměrném věku 7,6 let [3, 4, 5, 6]. Trombocytopenie je nejčastějším typem cytopenie při diagnóze FA. Obvykle je

doprovázena makrocytózou červených krvinek. U více než 90 % pacientů s FA se makrocytóza objeví již v kojeneckém nebo dětském věku. Je-li u pacienta diagnostikována FA, je nutné provést komplexní hematologické vyšetření pod vedením lékaře specializovaného na FA, aby se vyloučily jiné příčiny cytopenie než primární BMF.

Klinické sledování selhání kostní dřeně

Klinické sledování a léčebný postup se řídí následujícími faktory:

- Závažnost cytopenie
- Trendy hodnot krevního obrazu periferní krve
- Výskyt nebo vývoj morfologických (dysplastických) a cytogenetických abnormalit kostní dřeně
- Přítomnost potenciálně vysoce rizikových genotypů (viz kapitola 2)

V době stanovení diagnózy by pacienti s FA měli podstoupit jednostrannou trepanobiopsii kostní dřeně za účelem posouzení buněčné hustoty a struktury kostní dřeně. Měla by být rovněž provedena aspirace kostní dřeně za účelem posouzení morfologie z hlediska dysplastických změn a cytogenetického vyšetření na abnormality typické pro FA a myelodysplastický syndrom (MDS) (viz kapitola 2). Pokud je u dítěte nemoc diagnostikována v kojeneckém věku a má normální krevní obraz, mnozí lékaři odkládají první vyšetření kostní dřeně až do věku 2 let nebo později, protože v raném věku je pravděpodobnost hematologických problémů nízká. Následně se četnost kontrol řídí klinickým stavem pacienta a doporučeními místního lékaře specializovaného na FA. Vyšetření kostní dřeně by měl provádět lékař specializovaný na FA a interpretaci výsledků by měl provést zkušený hematopatolog.

Doporučení pro klinické sledování selhání kostní dřeně

- Závažnost cytopenie
- Trendy hodnot krevního obrazu periferní krve
- Výskyt nebo vývoj morfologických (dysplastických) a cytogenetických abnormalit kostní dřeně
- Přítomnost potenciálně vysoce rizikových genotypů (viz kapitola 2)

Klonální evoluce

Pacienti s Fanconiho anémií (FA) mají výrazně zvýšené riziko rozvoje klonálního onemocnění a mohou se u nich objevit myelodysplastický syndrom (MDS) nebo akutní myeloidní leukémie (AML), a to jak v souvislosti se selháním kostní dřeně (BMF), tak i v případech pacientů s normálními krevními hodnotami [8].

Klonální abnormality

Účelem pravidelného vyšetření kostní dřeně a cytogenetické analýzy je identifikovat klonální vývoj směrem k MDS nebo AML v souvislosti se změnami v krevním obrazu nebo s nálezem při fyzickém vyšetření. I přes přítomnost klonálních abnormalit mohou někteří pacienti vykazovat stabilní hematopoézu a mít relativně příznivou dlouhodobou prognózu, zatímco u jiných pacientů může existovat vysoké riziko rychlé progresy do MDS nebo leukémie. Pravidelná vyšetření kostní dřeně s podrobnými testy prováděná dříve, než dojde ke změnám v krevním obrazu, představují nejlepší příležitost k včasné diagnostice progresy onemocnění kostní dřeně a poskytují dostatek času na projednání možností léčby. Interpretace specifických chromozomálních abnormalit, které naznačují klonální progresi k MDS nebo AML, je podrobně popsána v kapitole 2. Rozhodnutí o tom, jak v léčbě postupovat, by mělo být učiněno po konzultaci s lékařem specializujícím se na FA. Kromě analýzy karyotypu zaměřené na odhalení chromozomálních abnormalit využívá v současné době řada center sekvenování nové generace k vyhledávání klinicky významných molekulárních změn v myeloidních buňkách, které naznačují klonální evoluci. Kromě toho u pacientů s FA dochází za určitých okolností k reverzi germinální mutace genu FANCA v hematopoetické buňce, což vede ke zvýšené proliferaci a následně k somatickému mozaicismu (viz kapitola 2). Tato výjimečná situace si rovněž žádá konzultaci s odborníkem na FA.

Doporučení pro léčbu pacientů s myelodysplastickým syndromem nebo akutní myeloidní leukémií

Transplantace hematopoetických buněk (HCT) představuje jedinou kurativní léčbu MDS nebo leukémie a léčba by měla být prováděna v centrech, která mají zkušenosti s FA. Jelikož chemoterapie před HCT může u pacientů s FA způsobit závažnou, dlouhodobou nebo dokonce nevratnou myelosupresi, není vhodné ji zahajovat, dokud nebude nalezen potenciální dárce kmenových buněk, pokud je to možné. U pacientů, u nichž se v době stanovení diagnózy FA zjistí MDS nebo AML, lze v rámci přípravy na transplantaci použít chemoterapii nízké intenzity. Publikované zprávy o chemoterapeutických režimech pro léčbu AML u pacientů s FA jsou sporadické a omezené nedostatkem dlouhodobého sledování. Zda chemoterapie před transplantací zlepšuje či zhoršuje výsledky léčby, zůstává nejasné [9].

Možnosti léčby hematologických onemocnění

Omezení transfuzní podpory na minimum

Nástup cytopenie u pacientů s Fanconiho anémií (FA) je obvykle pozvolný. Je třeba pečlivě sledovat krevní obraz, aby bylo možné zahájit léčbu (konkrétně transplantaci hematopoetických buněk [HCT]) ještě předtím, než bude nutné provést transfuze. Léčbu anémie je třeba zvážit, pokud je hladina hemoglobinu trvale nižší než 7 g/dl nebo pokud pacient trpí srdečním či plicním onemocněním, které vyžaduje vyšší hladinu hemoglobinu. Léčbu trombocytopenie a neutropenie je třeba zvážit v případě, že počet krevních destiček trvale klesá pod 10 000/mm³ a absolutní počet neutrofilů zůstává trvale pod 500/mm³. Transfuzím je třeba se pokud možno vyhýbat, aby se maximalizovala úspěšnost HCT; neměly by však být zcela vyloučeny, pokud jsou hodnoty krevního obrazu nebezpečně nízké. Kromě toho se dlouhodobé transfuze červených krvinek a krevních destiček mohou stát jediným záchraným prostředkem pro pacienty, u nichž není možné provést HCT. Všechny transfuzní přípravky by měly být ozářené a negativní na cytomegalovirus. U pacientů s neutropenií je rovněž třeba zvážit antibakteriální a antimykotickou profylaxi.

Transplantace hematopoetických buněk

Jedinou léčebnou možností při selhání kostní dřeně (BMF), myelodysplastickém syndromu (MDS) nebo akutní myeloidní leukémii (AML) u pacientů s FA je HCT. Výsledky přežití po HCT se u pacientů s FA výrazně zlepšily, a to především díky včasnějšímu doporučení HCT ještě před nástupem MDS nebo AML, zdokonalení léčebných plánů, kompatibilitě lidských leukocytárních antigenů mezi pacienty a dárce a lepší podpůrné péči před, během i po HCT. Lze využít různé zdroje dárcovských kmenových buněk, včetně kostní dřeně, mobilizované periferní krve a pupečnickové krve. Rozhodnutí ohledně výběru dárce a možností přípravného režimu by měl učinit lékař specializovaný na FA po konzultaci s pacientem a jeho rodinou. Všichni pacienti s FA by měli dostávat červené krvinky, které byly filtrovány za účelem odstranění leukocytů, aby se snížilo riziko infekce cytomegalovirem (CMV). Některá centra používají pouze červené krvinky, které jsou CMV-negativní, zatímco většina pracovišť považuje depleci leukocytů za stejně účinnou alternativu k CMV-negativním přípravkům. Je vhodné používat ozářené krevní přípravky, aby se předešlo transfuzní formě reakce štěpu proti hostiteli (GvHD), zejména pokud se zvažuje transplantace. Rozšířené testování shody antigenů u transfuzních červených krvinek může být důležité u pacientů z určitých rasových skupin, u nichž se menší nesoulad antigenů vyskytuje častěji.

Pacientům by neměly být podávány krevní transfuze od příbuzných, a to z důvodu rizika vzniku aloimunizace, která by zvýšila riziko odmítnutí štěpu po HCT. Krev od nepříbuzných předem určených dárců nepřináší žádné zvýšení bezpečnosti transfuze a může zbytečně oddálit potřebnou transfuzi.

Nejnovější pokroky v oblasti transplantace hematopoetických buněk

- Výsledky po HCT u dospělých pacientů se v posledních desetiletích zlepšily, zejména u pacientů, kteří podstoupili transplantaci v aplastické fázi [7, 10, 11].
- Je nezbytné, aby pacienti podstoupili HCT na špičkovém pracovišti pro FA nebo v zařízení specializujícím se na péči o pacienty s FA.
- Míra přežití po HCT se nadále zlepšuje jak u pacientů s HLA kompatibilními sourozenci, tak u pacientů s alternativními dárci [12].
- Deplece T-buněk vedla ke zlepšení výsledků léčby díky snížení rizika reakce štěpu proti hostiteli (GvHD), zejména v případech, kdy není k dispozici zdravý HLA-kompatibilní dárc z řad sourozenců a je využit alternativní dárc.
- V současné době se doporučuje snížená intenzita přípravné léčby a režimy HCT, které nevyžadují ozařování, jsou za určitých podmínek úspěšné. Transplantace od příbuzných i nepříbuzných dárců má podobné výsledky.

Pacienti s FA mají po HCT zvýšené riziko vzniku rakoviny, pokud dojde k chronické nebo akutní GvHD a pokud byla v rámci léčebného režimu použita genotoxická příprava nebo ozařování [1]. K snížení pravděpodobnosti rozvoje GvHD se využívají různé strategie, včetně zlepšené shody HLA mezi dárcem a příjemcem a deplece T-buněk. Deplece T-buněk lze dosáhnout pomocí manipulace s transplantátem ex vivo (např. Obohacení buněk CD34+ a deplecí T-buněk TCRaB+) nebo pomocí strategií in vivo (např. podáním cyklofosfamidu po transplantaci a séroterapie). Kromě toho se zkoumají protokoly kondicionování bez použití záření, které využívají busulfan v snížené dávce a protilátky anti-CD117. Dlouhodobé sledování po HCT na špičkovém pracovišti pro FA nebo v zařízení specializujícím se na péči o pacienty s FA je nezbytné pro celoživotní monitorování.

Indikace k transplantaci hematopoetických buněk

Kritéria způsobilosti pro zvážení transplantace hematopoetických buněk od sourozence nebo alternativního dárce jsou následující:

- Těžká aplastická anémie (hemoglobin trvale < 8 g/dl nebo absolutní počet neutrofilů trvale < 500/mm³ nebo počet krevních destiček trvale < 20 000/mm³)
- Pokročilý MDS nebo AML
- Vhodný dárc [8, 9]

Dlouhodobá následná péče po transplantaci hematopoetických buněk

Dlouhodobé sledování po transplantaci hematopoetických buněk (HCT) je třeba považovat za nepostradatelnou součást rutinní lékařské péče o pacienty s Fanconiho anémií (FA). Dětská onkologická skupina (Children's Oncology Group) vypracovala pokyny pro dlouhodobou péči o osoby, které v dětství překonaly rakovinu [13]. Kromě toho Americká společnost pro transplantaci krve a kostní dřeně, Evropská skupina pro transplantaci krve a kostní dřeně a Centrum pro mezinárodní výzkum transplantace krve a kostní dřeně nedávno vypracovaly společná doporučení, která zahrnují navrhované screeningové a preventivní postupy pro dospělé přeživší po HCT [14]. Mnohá z těchto doporučení se vztahují na pacienty s FA, kteří podstoupili HCT.

U všech pacientů léčených HCT, včetně pacientů s FA, se mohou vyskytnout zdravotní komplikace známé jako „pozdní následky“, které se mohou objevit dlouho po zákroku. Mezi tyto nežádoucí účinky patří pozdní selhání transplantátu, stejně jako recidivující akutní a chronická reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) a sekundární malignity. Další pozdní následky po HCT, jako je malý vzrůst a neplodnost, nebyly u pacientů s FA formálně hodnoceny, jelikož se může jednat o již dříve existující problémy. Opožděné vedlejší účinky HCT mohou mít negativní dopad na fyzické a duševní zdraví pacienta, kvalitu jeho života, růst, vývoj, vzdělání a zaměstnání (tabulka 2). Pacienti by proto měli být pravidelně sledováni z hlediska rozvoje těchto účinků [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23].

Tabulka 2. Možné dlouhodobé nežádoucí důsledky Fanconiho anémie nebo transplantace hematopoetických buněk.

Postižený orgán nebo systém	Nežádoucí účinky
Všeobecné	Nízký vzrůst Primární nebo sekundární nádory
Kůže	Proměnlivá pigmentace Suchost Ztluštění
Oči	Šedý zákal Suché oči
Uši, nos a krk	Chronická sinusitida Ztráta sluchu Sucho v ústech
Srdce	Vrozené vady Nadbytek železa
Plíce	Plicní fibróza

Postižený orgán nebo systém	Nežádoucí účinky
Játra	Chronické onemocnění jater Nadbytek železa v důsledku transfuzí
Ledviny a urogenitální systém	Vrozené vady Chronické selhání ledvin
Gastrointestinální trakt*	Vrozené vady Neprospívání Funkční poruchy (např. nedostatečné vstřebávání)
Endokrinní systém	Diabetes Hypotyreóza
Pohlavní orgány	Maskulinizace v důsledku léčby androgeny Neplodnost Předčasná menopauza
Pohybový aparát	Anomálie rukou a paží Anomálie kyčelního kloubu
Psychologický vliv	Psychosociální problémy (např. úzkosti, deprese)
Systémové	Zhoubné nádory†

Zdroje použité pro tabulku 2: [15-23]

*Od přibližně 10 let věku.

†Mohou být důsledkem Fanconioho anémie nebo mohou být vyvolány či urychleny transplantací hematopoetických buněk (viz kapitoly 4 a 5).

Praktické aspekty dlouhodobé následné péče

Obecná doporučení pro vyšetření před HCT a dlouhodobé sledování všech pacientů s FA (bez ohledu na to, zda podstoupili HCT) jsou uvedeny v tabulkách 3 a 4 [15, 24, 25, 26, 27, 28]. Plány dlouhodobé péče by měly být přizpůsobeny konkrétním potřebám každého pacienta pod dohledem týmu pro dlouhodobou péči, který se skládá z lékaře specializujícího se na HCT, primárního hematologa a multidisciplinárního týmu specialistů v centru excelence pro FA nebo v zařízení specializujícím se na péči o pacienty s FA. Pacienti s biallelickými mutacemi v genech FANCD1/BRCA2 by navíc měli podstoupit důkladnější vyšetření (tj. každoroční magnetickou rezonanci mozku a ultrazvukové sledování ledvin) a měli by být sledováni lékařem specializovaným na FA.

Tabulka 3. Doporučení pro předtransplantační vyšetření pacientů s Fanconioho anémií před transplantací hematopoetických buněk.

Fyzické vyšetření a anamnéza	Zjistěte kompletní anamnézu pacienta a jeho rodiny a proveďte podrobné fyzické vyšetření.
Multidisciplinární hodnocení	U všech pacientů proveďte vyšetření zraku, sluchu, endokrinního systému, stavu výživy a neuropsychologické

Fyzické vyšetření a anamnéza	Zjistěte kompletní anamnézu pacienta a jeho rodiny a proveďte podrobné fyzické vyšetření.
	vyšetření. Proveďte důkladné vyšetření ústní dutiny (u zubního lékaře) a podrobné vyšetření kůže. Podle potřeby proveďte další vyšetření, jako je například gastrointestinální endoskopie nebo nazolaryngoskopický screening.
Hematologické vyšetření	Určete fázi onemocnění (cytopenie jedné nebo více linií, MDS, AML). Zkontrolujte kompletní krevní obraz (CBC), fetální hemoglobin, alfa-fetoprotein, aspirát a biopsii kostní dřeně, cytogenetické vyšetření, průtokovou cytometrii a FISH u chromozomů 3 a 7.
Předchozí transfuze (riziko nadměrného množství železa)	Zkontrolujte počet transfuzí, anamnézu chelatační léčby a hladiny feritinu. K posouzení přetížení jater nebo srdce železem zvážit použití MRI s vážením T2*. Zkontrolujte, zda nedošlo k aloimunizaci a přítomnost DSA.
Předchozí užívání androgenů	Uveďte typ, dobu trvání a dávkování. Zkontrolujte, zda se nevyskytují příznaky virilizace, růstové problémy a poruchy funkce jater. Proveďte ultrazvukové vyšetření břicha, vyšetření funkce jater, metabolismu lipidů a posouzení kostního věku.
Předchozí užívání glukokortikoidů	Uveďte typ, dobu trvání a dávkování. Zkontrolujte, zda se nevyskytují příznaky Cushingova syndromu (hyperglykémie, hypertenze, metabolický syndrom, avaskulární nekróza) a adrenální insuficience.
Vyšetření dospělých	Zvláštní pozornost věnujte urologickým a gynekologickým problémům. Proberte otázku plodnosti a možnosti kryokonzervace před HCT. Včasná diagnostika prostřednictvím onkologického screeningu je pro všechny pacienty s FA zásadní (viz kapitoly 4, 5 a 7).
Otázky týkající se životního stylu	Doporučte úplnou abstinenci od kouření a alkoholu, správnou ústní hygienu, používání opalovacích krémů, zdravou stravu a fyzickou aktivitu.
Posouzení vrozených vad	(např. hlavy, srdce, kostí, urogenitálního systému, zažívacího traktu).
Vyšetření centrálního nervového systému (mozku)	U dětí s více vrozenými vadami provést MRI (za účelem vyšetření hypofýzy).
Vyšetřit endokrinní potíže	Zjistěte, zda se u pacienta vyskytuje nízký vzrůst, zvýšená hladina glukózy a poruchy funkce štítné žlázy, pohlavních žláz nebo metabolismu lipidů.
Postpubescentní pacienti	Vyšetřete plodnost.

Zdroje pro tabulku 3: odkazy [15, 24–28]

AML, akutní myeloidní leukémie; CBC, kompletní krevní obraz; DSA, specifické protilátky proti dárce; FA, Fanconiho anémie; FISH, fluorescenční in situ hybridizace; MDS, myelodysplastický syndrom; MRI, magnetická rezonance.

Tabulka 4. Obecná doporučení a doporučení pro dlouhodobé sledování pacientů s Fanconiho anémií po transplantaci hematopoetických buněk.

Pravidelné prohlídky, včetně anamnézy a fyzického vyšetření

Doporučení pro vyšetření	1 rok	2 roky	3 roky	4 roky	5 let	Jednou ročně
Pravidelné prohlídky (včetně anamnézy a fyzického vyšetření)	X	X	X	X	X	X
Doporučení pro pacienty: dodržovat zdravou stravu, pravidelně cvičit, dbát na správnou ústní hygienu a používat opalovací krém	X	X	X	X	X	X
Doporučení pro pacienty: zcela se zdržet konzumace alkoholu a kouření (včetně vapování)	X	X	X	X	X	X

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Kompletní krevní obraz	X	X	X	X	X	X
Aspirace kostní dřeně (včetně vyšetření chimérismu a cytogenetických vyšetření)	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	
Hladiny feritinu a železa (v případě vysokých hladin feritinu proveďte MRI s vážením T2*)	X	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	

IMMUNOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Imunitní fenotyp a funkce	X	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu			
Hladiny IgG, IgA a IgM	X	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	
Očkování (včetně vakcín proti HPV)	X	Podle harmonogramu				Podle potřeby podat posilovací

Doporučení pro vyšetření	1 rok	2 roky	3 roky	4 roky	5 let	Jednou ročně
						dávky

KARDIOLOGIE

Profil lipidů nalačno (včetně celkového cholesterolu, LDL-cholesterolu, HDL-cholesterolu a triglyceridů)	X	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	X	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	X	Opakovat, pokud byl předchozí test v normě
EKG	X	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	X	Opakovat, pokud byl předchozí test v normě
Echokardiografie	X	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	X	Opakovat, pokud byl předchozí test v normě

PLICNÍ VYŠETŘENÍ

Vyšetření funkce plic k vyloučení obstrukčního nebo restriktivního onemocnění	X	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	X	
---	---	---	---	---	---	--

GASTROINTESTINÁLNÍ VYŠETŘENÍ

Kolonoskopie (každoročně, od 30 let)	Věk ≥ 30 let	Věk ≥ 30 let	Věk ≥ 30 let	Věk ≥ 30 let	Věk ≥ 30 let	Jednou ročně od věku ≥ 30 let
--------------------------------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	-------------------------------

JATERNÍ VYŠETŘENÍ

Rozbor jaterních funkčních parametrů	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Biopsie jater: pokud jsou hodnoty jaterních testů zvýšené, zvažte nutnost provedení biopsie jater	Pouze v případě abnormálního výsledku předchozího vyšetření					

Doporučení pro vyšetření	1 rok	2 roky	3 roky	4 roky	5 let	Jednou ročně
Test hladiny feritinu a železa (v případě vysokých hladin feritinu proveďte MRI s vážením T2*)	Je-li indikováno lékařem	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	Opakovat při abnormálním výsledku předchozího testu	

VYŠETŘENÍ LEDVIN

Analýza elektrolytů, BUN a kreatininu v moči	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Rozbor moči	X		X		X	

ENDOKRINOLOGICKÉ a METABOLICKÉ VYŠETŘENÍ

Orální glukózový toleranční test	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Vyšetření metabolismu lipidů	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Vyšetření funkce pohlavních žláz	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Vyšetření hladin TSH a FT4	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Hladiny FSH a LH u dětí mladších 10 let, hladina estradiolu u dívek ve věku ≥ 10 let a hladina testosteronu u chlapců ve věku ≥ 11 let	X	X	X	X	X	Dle potřeby
Testování IGF-1 a IGFBP-3 (věk < 18 let)	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	
Testování hladin vitamínu D 25-OH a vápníku	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Stanovení kostního věku (u pacientů ve věku 5–18 let)	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	
Vyšetření minerální hustoty kostí	X	X	X	X	X	
DXA sken (upraven podle výšky)	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem

RŮST a VÝVOJ

Zaznamenání výšky a hmotnosti do růstové tabulky	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Neuropsychologické vyšetření se zvláštním zaměřením na neurokognitivní	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	

Doporučení pro vyšetření	1 rok	2 roky	3 roky	4 roky	5 let	Jednou ročně
problémy (zejména v případě opoždění vývoje)						
HLAVA a KRK						
Ofthalmologické vyšetření	X	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Je-li indikováno lékařem	Dle potřeby
Screening rakoviny hlavy a krku (prováděný specialistou na oblast hlavy a krku)	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců
Vyšetření zraku a sluchu	X		Dle potřeby		Dle potřeby	
Pololetní stomatologické vyšetření (nemusí být nutné, pokud se provádějí vyšetření uší, nosu a krku); dále se doporučuje každý měsíc provádět samovyšetření ústní dutiny	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců	Každých 6 měsíců
GYNEKOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ						
Zajistit očkování proti HPV	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Všeobecné gynekologické vyšetření a screening rakoviny (u žen starších 13 let)	X	X	X	X	X	Jednou ročně
DERMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ						
Vyšetření znamének a možných kožních nádorů	X	X	X	X	X	Jednou ročně
Vyšetření na kožní formu GvHD	X	X	X	X	X	Jednou ročně

Zdroje: odkazy [15, 24–28].

BUN, močovinový dusík v krvi; DXA, duální rentgenová absorpciometrie; EKG, elektrokardiogram; FT4, volný tyroxin; GvHD, reakce štěpu proti hostiteli; HDL, lipoprotein s vysokou hustotou; HPV, lidský papilomavirus; Ig, imunoglobulin; IGF-1, inzulinový růstový faktor 1; IGFBP-3, vazebný protein inzulinového růstového faktoru 3; LDL, lipoprotein s nízkou hustotou; MRI, magnetická rezonance; TSH, thyreotropní hormon.

Alternativní způsoby léčby selhání kostní dřeně

V současné době je transplantace hematopoetických buněk (HCT) jedinou známou kurativní léčbou selhání kostní dřeně (BMF), myelodysplastického syndromu (MDS) a akutní myeloidní leukémie (AML). Někteří pacienti s BMF a závažnou cytopenií (tabulka 1) však nemohou podstoupit HCT, a proto je v těchto případech třeba zvážit alternativní terapie. Terapie, které se v současné době zkoumají pro léčbu mírné nebo středně závažné cytopenie (např. androgeny, faktor stimující tvorbu kolonií granulocytů, eltrombopag, metformin nebo kvercetin [8, 29, 30, 31, 32, 33, 34]) mohou pomoci udržet krevní obraz, stabilizovat hematopoetické onemocnění u FA a zlepšit kvalitu života, avšak nesou s sebou potenciální rizika a je nepravděpodobné, že by zcela zabránily progresi hematopoetického onemocnění.

Genová terapie

Genové terapie se v současné době testují u různých onemocnění s hematopoetickou složkou, včetně FA [35, 36, 37, 38]. V prvních klinických studiích genové terapie kmenovými buňkami zaměřené na FA byly k zavedení genů FANCA nebo FANCC použity retroviry. Tyto prvotní protokoly však nevedly k žádné změně nebo pouze k přechodné korekci hematopoetických buněk, což je zjištění, které odpovídá pouze krátkodobé funkční genové komplementaci [39, 40, 41, 42]. Zkušenosti získané z dřívějších klinických studií genové terapie a preklinických studií na zvířecích modelech postupně vedly k vypracování zdokonalených protokolů klinických studií [42, 43, 44, 45].

V rámci první úspěšné klinické studie genové terapie u pacientů s variantami genu FANCA byl hodnocen přenos hematopoetických genů zprostředkovaný lentiviry do mobilizovaných hematopoetických progenitorových kmenových buněk z periferní krve pacientů s FA, načež následovala infuze bez kondicionování těmito stejnými pacienty. Tento přístup vedl k částečnému přihojení a množení buněk s opraveným genem FANCA [46]. V současné době probíhají další klinické studie genové terapie u pacientů s variantami genu FANCA, přičemž u určité podskupiny pacientů, zejména u těch, kteří byli léčeni v rané fázi onemocnění, kdy byla jejich rezerva kostní dřeně ještě dostatečná, byly zaznamenány slibné výsledky [47, 48]. Taková léčba se může v konečném důsledku ukázat jako preventivní a léčebná terapie pro hematologické aspekty onemocnění FA, je však zapotřebí dalšího výzkumu, aby bylo možné plně pochopit rizika a přínosy této léčby.



Shrnutí

Fanconiho anémie (FA) je genetické onemocnění charakterizované poruchami opravy DNA, které nepříznivě ovlivňují stabilitu hematopoetických kmenových buněk. To má za následek vysokou pravděpodobnost, že u pacientů s FA dojde k selhání kostní dřeně (BMF) nebo ke klonální progresi do myelodysplastického syndromu (MDS) či akutní myeloidní leukémie (AML). V současné době je jedinou léčbou BMF transplantace hematopoetických buněk (HCT). Doporučení pro klinické sledování BMF vycházejí ze stability hodnot periferního krevního obrazu a z přítomnosti klonálních abnormalit zjištěných při pravidelných vyšetřeních kostní dřeně. Rozhodnutí o provedení HCT u pacientů s FA, u nichž se vyskytuje BMF, klonální abnormality, MDS nebo AML, by mělo být učiněno po konzultaci s lékařem specializujícím se na FA. Vývoj protokolů HCT v poslední době vede k pokračujícímu zlepšování míry přežití. Mezi tyto pokroky patří mimo jiné poznatek, že HCT bez celotělového ozařování je u většiny pacientů úspěšná; že ex vivo deplece T-buněk je bezpečná a může snížit výskyt reakce štěpu proti hostiteli; a že HCT od neshodných příbuzných, nepříbuzných a haploidentických dárců může být úspěšná u pacientů, kteří nemají k dispozici žádné jiné možnosti dárců [8]. Transplantace hematopoetických buněk s sebou obecně nese zvýšené riziko vzniku časného vývoje rakoviny v důsledku reakce štěpu proti hostiteli, kondicionálních režimů a dlouhodobé imunosuprese. To zdůrazňuje nutnost pečlivého sledování v rámci dlouhodobé péče po HCT. V neposlední řadě se rovněž objevují důkazy o tom, že genová terapie představuje slibnou možnost léčby BMF u pacientů s FA.

Nadace Fanconi Cancer Foundation oceňuje příspěvky těchto autorů:

Carmem Bonfim, MD*

Maria Cancio, MD*

Agnieszka Czechowicz, MD, PhD*

Stella Davies, MBBS, PhD, MRCP

Carlo Dufour, MD

Margaret MacMillan, MD, MSc

Regis Peffault de Latour, MD, PhD

Meera Srikanthan, MD

John Wagner, MD

Recenzi provedli:

Gary Kupfer, MD

Bonnie Lau, MD, PhD

Thomas Michniacki, MD

Michelle Nash, MD

**Spolupředsedkyně odborné komise*

Použitá literatura

1. Péffault de Latour et al., Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anemia: the european group for blood and marrow transplantation experience. *Blood*, 2013. 122(26): str. 4279-4286.
2. Auerbach, Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutat Res*, 2009. 668(1-2): str. 4-10.
3. Shimamura a Alter, Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev*, 2010. 24(3): str. 101-122.
4. Alter, Cancer in Fanconi anemia, 1927-2001. *Cancer*, 2003. 97(2): str. 425-440.
5. Kutler et al., A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR). *Blood*, 2003. 101(4): str. 1249-1256.
6. Rosenberg et al., Cancer incidence in persons with Fanconi anemia. *Blood*, 2003. 101(3): str. 822-826.
7. Bierings et al., Transplant results in adults with Fanconi anaemia. *British Journal of Haematology*, 2017. 180(1): str. 100-109.
8. Dufour a Pierri, Modern management of Fanconi anemia. *Hematology, ASH Education Program*, 2022. 1(1): str. 649-657.

9. Mitchell et al., Haematopoietic cell transplantation for acute leukaemia and advanced myelodysplastic syndrome in Fanconi anaemia. *British Journal of Haematology*, 2014. 163(3): str. 384-395.
10. Bonfim et al., Transplantation for Fanconi anaemia: lessons learned from Brazil. *The Lancet Haematology*, 2022. 9(3): str. 228-236.
11. Wang et al., Phenotypes of adults with Fanconi anaemia. *British Journal of Haematology*, 2022. p. 1-7.
12. Zubicaray et al., Haplo-identical or mismatched unrelated donor hematopoietic cell transplantation for Fanconi anemia: results from the severe aplastic anemia working party of the EMBT. *American Journal of Hematology*, 2021. 96(5): str. 571-579.
13. Children's Oncology Group, Long-term follow-up guidelines for children's cancer survivors. 2020. Přístup: <http://www.survivorshipguidelines.org>
14. Majhail et al., Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2012. 47(3): str. 337-341.
15. Anur et al., Late effects in patients with Fanconi anemia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from alternative donors. *Bone Marrow Transplant*, 2016. 51(7): str. 938-944.
16. Armenian et al., Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research: survivorship and outcomes. *Pediatr Blood Cancer*, 2013. 60(6): str. 1063-1068.
17. Baker et al., Diabetes, hypertension, and cardiovascular events in survivors of hematopoietic cell transplantation: a report from the bone marrow transplantation survivor study. *Blood*, 2007. 109(4): str. 1765-1772.
18. Boulad et al., Late complications after bone marrow transplantation in children and adolescents. *Curr Probl Pediatr*, 1998. 28(9): str. 273-297.
19. Filipovich et al., National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005. 11(12): str. 945-956.
20. Leiper, Non-endocrine late complications of bone marrow transplantation in childhood: part II. *Br J Haematol*, 2002. 118(1): str. 23-43.
21. Leiper, Non-endocrine late complications of bone marrow transplantation in childhood: part I. *Br J Haematol*, 2002. 118(1): str. 3-22.
22. Pulsipher et al., National Cancer Institute, National Heart, Lung and Blood Institute/Pediatric Blood and Marrow Transplantation Consortium First International Consensus Conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation: the need for pediatric-specific long-term follow-up guidelines. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2012. 18(3): str. 334-347.
23. Socie et al., Nonmalignant late effects after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 2003. 101(9): str. 3373-3385.
24. Bonfim et al., Long-term survival, organ function, and malignancy after hematopoietic stem cell transplantation for Fanconi anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016. 22(7): str. 1257-1263.
25. Dietz et al., Current knowledge and priorities for future research in late effects after hematopoietic cell transplantation for inherited bone marrow failure syndromes: consensus statement from the second pediatric blood and marrow transplant consortium international conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017. 23(5): str. 726-735.
26. Dietz et al., Late effects screening guidelines after hematopoietic cell transplantation for inherited bone marrow failure syndromes: consensus statement from the second pediatric

blood and marrow transplant consortium international conference on late effects after pediatric HCT. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017. 23(9): str. 1422-1428.

27. Bonfim, Special pre- and posttransplant considerations in inherited bone marrow failure and hematopoietic malignancy predisposition syndromes. *Hematology, ASH Education Program*, 2020. 1: str. 107-114.
28. Alter, Inherited bone marrow failure syndromes: considerations pre- and posttransplant. *Blood*, 2017. 130(21): str. 2257-2264.
29. Sejas et al., Inflammatory reactive oxygen species-mediated hemopoietic suppression in Fancc-deficient mice. *J Immunol*, 2007. 178(8): str. 5277-5287.
30. Chen et al., Reappraisal of the anticancer efficacy of quercetin in oral cancer cells. *J Chin Med Assoc*, 2013. 76(3): str. 146-152.
31. Kashyap et al., Fisetin and quercetin: promising flavonoids with chemopreventive potential. *Biomolecules*, 2019. 9(5).
32. Crossan, Metformin: treating the cause of Fanconi anemia? *Blood*, 2016. 128(24): str. 2748-2750.
33. Zhang et al., Metformin improves defective hematopoiesis and delays tumor formation in Fanconi anemia mice. *Blood*, 2016. 128(24): str. 2774-2784.
34. Pollard et al., Metformin for treatment of cytopenias in children and young adults with Fanconi anemia. *Blood Advances*, 2022. 6(12): str. 3803-3811.
35. Thompson et al., Gene therapy in patients with transfusion-dependent beta-thalassemia. *N Engl J Med*, 2018. 378(16): str. 1479-1493.
36. Maude et al., Tisagenlecleucel in children and young adults with B-Cell lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine*, 2018. 378(5): str. 439-448.
37. Mamcarz et al., Lentiviral gene therapy combined with low-dose busulfan in infants with SCID-X1. *N Engl J Med*, 2019. 380(16): str. 1525-1534.
38. Biffi et al., Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits metachromatic leukodystrophy. *Science*, 2013. 341(6148): str. 1233-1258.
39. Williams et al., Gene therapy in the treatment of Fanconi anemia, a progressive bone marrow failure syndrome. *Curr Opin Mol Ther*, 2005. 7(5): str. 461-466.
40. Liu et al., Engraftment of hematopoietic progenitor cells transduced with the Fanconi anemia group C gene (FANCC). *Hum Gene Ther*, 1999. 10(14): str. 2337-2346.
41. Walsh et al., A functionally active retrovirus vector for gene therapy in Fanconi anemia group C. *Blood*, 1994. 84(2): str. 453-459.
42. Muller et al., Finding the needle in the hay stack: hematopoietic stem cells in Fanconi anemia. *Mutat Res*, 2009. 668(1-2): str. 141-149.
43. Galimi et al., Gene therapy of Fanconi anemia: preclinical efficacy using lentiviral vectors. *Blood*, 2002. 100(8): str. 2732-2736.
44. Molina-Estevez et al., Lentiviral-mediated gene therapy in Fanconi anemia-A mice reveals long-term engraftment and continuous turnover of corrected HSCs. *Curr Gene Ther*, 2015. 15(6): str. 550-562.
45. Rio et al., In vitro phenotypic correction of hematopoietic progenitors from Fanconi anemia group A knockout mice. *Blood*, 2002. 100(6): str. 2032-2039.
46. Rio et al., Successful engraftment of gene-corrected hematopoietic stem cells in non-conditioned patients with Fanconi anemia. *Nat Med*, 2019. 25(9): str. 1396-1401.

47. Inc., R. P. Lentiviral-mediated gene therapy for pediatric patients with Fanconi anemia subtype A. 2020. Přístup: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04069533>
48. FARF FA Connect: Gene Therapy Clinical Trial Update. 2022. Přístup: <https://www.youtube.com/watch?v=cg0KEByGEDE>

Kapitola 4

Solidní nádory jiné než HNSCC u pacientů s Fanconiho anémií

Úvod

Riziko vzniku rakoviny a její léčba představují pro pacienty s Fanconiho anémií (FA) závažný problém, a to kvůli poruchám opravy DNA spojeným s tímto onemocněním. Mezi nejčastěji diagnostikované solidní nádory u pacientů s FA patří dlaždicobuněčný karcinom hlavy a krku (HNSCC) a gynekologický dlaždicobuněčný karcinom (SCC). Kromě gynekologického SCC se u pacientů s FA vyskytují i další solidní nádory jiné než HNSCC. Tato kapitola popisuje typy a výskyt solidních nádorů jiných než HNSCC u 2 600 případů a v sériích případů pacientů s FA, o nichž se zmiňuje lékařská literatura z let 1927 až 2018, jakož i z dalších kohort zahrnujících celkem více než 5 500 pacientů s FA. Počet pacientů s FA trpících jakýmkoli typem rakoviny přesáhl 500 v kazuistikách a sériích případů a více než 200 v kohortových studiích. Dále se zde pojednává o aktualizovaných údajích o riziku vzniku rakoviny v kohortě FA v rámci programu „Inherited Bone Marrow Failure Syndromes“ (Dědičné syndromy selhání kostní dřeně) Národního onkologického institutu (NCI) [1].

Srovnávací údaje zahrnují počty případů rakoviny zveřejněné Americkou onkologickou společností (ACS) v roce 2019 a americkým registrem nádorových onemocnění Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) [2, 3].

Většina údajů o nádorech jiných než HNSCC pocházela od pacientů s FA, kteří nepodstoupili transplantaci hematopoetických buněk (HCT), ačkoli tento stav nebyl ze zpráv vždy jasně patrný, a proto některé analýzy zahrnují kombinaci pacientů, kteří transplantaci nepodstoupili, a pacientů, kteří ji podstoupili.

Nádory jiné než HNSCC u pacientů s Fanconiho anémií

Četnost výskytu vzácných druhů rakoviny u pacientů s FA ve srovnání s obecnou populací, jak ji v roce 2019 uvedla Americká onkologická společnost (ACS), je znázorněna na obrázku 1 [2]. Tyto vzácné typy solidních nádorů u pacientů s FA nevykazují stejný výskyt jako u obecné populace. Například pět nejčastějších typů rakoviny jiných než HNSCC v obecné populaci představovaly rakovina prsu, plic, prostaty, tlustého střeva a melanom (tabulka 1, obrázek 1A), zatímco v kazuistikách a sériích případů FA patřily mezi pět nejčastějších typů rakoviny jiných než HNSCC rakovina mozku, Wilmsův nádor, rakovina jater, jícnu a vulvy (tabulka 1, obrázek 1B). Nejčastěji hlášené typy rakoviny byly ve všech kohortách pacientů s FA podobné: rakovina jater, vulvy, děložního čípku, jícnu a mozku (obrázek 1C). Z celkových 2 600 hlášených případů s FA mělo více než 500 pacientů alespoň jeden typ rakoviny; více než 70 mělo HNSCC a více než 200 mělo leukémii, přičemž přibližně 200 pacientů (zhruba 1 z 13) mělo nádory jiné než HNSCC. Více než 80 pacientů mělo alespoň dva druhy rakoviny, ačkoli se u některých z nich nemuselo jednat o vzácné druhy rakoviny.

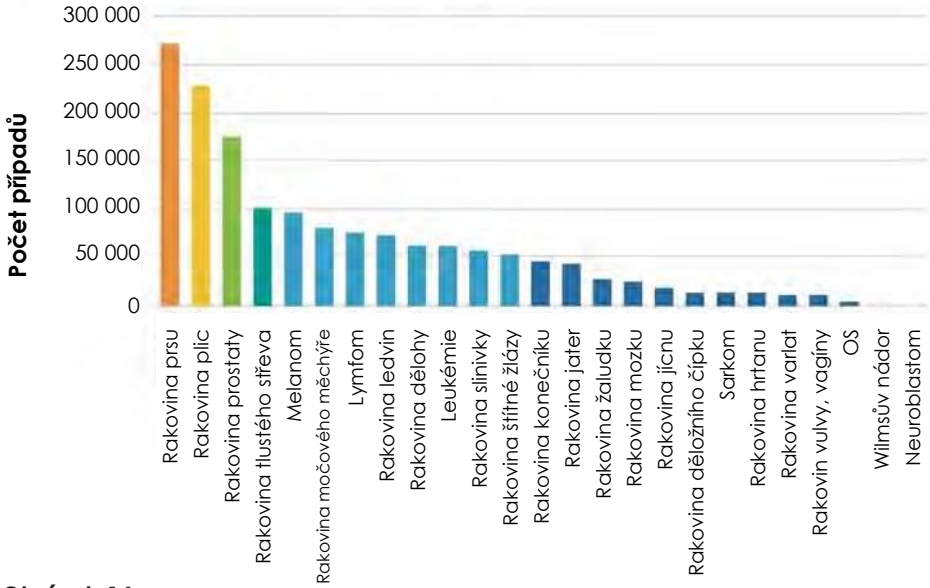
Tabulka 1. Solidní nádory jiné než HNSCC v obecné populaci USA a u pacientů s FA.*

Obecná populace	Případové studie Fanconiho anémie	Případy Fanconiho anémie v kohortových studiích
Rakovina prsu, plic, prostaty, tlustého střeva, melanom, rakovina močového měchýře, lymfom, rakovina ledvin, dělohy, slinivky břišní, štítné žlázy, konečníku, jater, žaludku, mozku, jícnu, děložního čípku, sarkom, rakovina hrtanu, varlat, vulvy, pochvy, osteosarkom, Wilmsův tumor, neuroblastom	Rakovina mozku, jater, Wilmsův nádor, rakovina jícnu, vulvy, pochvy, prsu, neuroblastom, sarkom, rakovina děložního čípku, plic, lymfom, rakovina tlustého střeva, žaludku, ledvin	Rakovina jater, vulvy, děložního čípku, jícnu, mozku, prsu, Wilmsův nádor, rakovina štítné žlázy, plic, lymfom, anorektální karcinom, osteosarkom

*Více než 40 000 případů v obecné populaci [2] a nejméně dva případy u osob s FA.

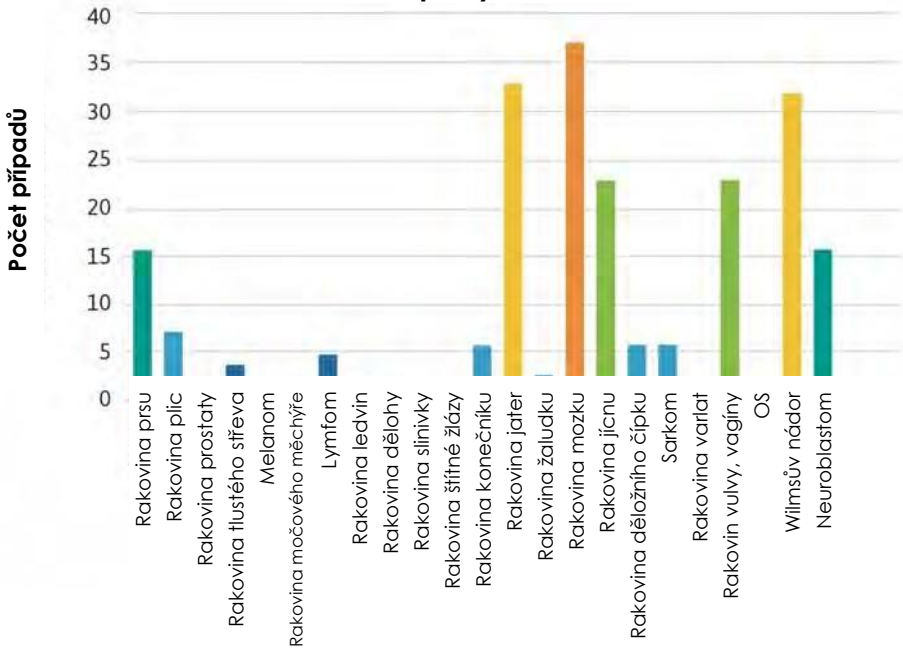
U pacientů s biallelickými mutacemi v genech FANCD1/BRCA2, stejně jako u několika pacientů s mutacemi v genech FANCN/PALB2, byly pozorovány kombinace jedné nebo dvou z následujících diagnóz: akutní myeloidní leukémie (AML), nádor na mozku, Wilmsův nádor a neuroblastom; u pacientů s jinými genotypy se však tyto kombinace nevyskytovaly. Mezi nejčastější druhy rakoviny, které se u jiných genotypů vyskytovaly jako jediný typ nádoru, patřily AML a rakovina jater, jícnu, vulvy a prsu. Několik typů rakoviny bylo hlášeno u méně než 10 pacientů (tj. rakovina plic, žaludku, lymfom, rakovina tlustého střeva a sarkomy (karcinosarkom rohovky po HCT a rabdomyosarkom)), stejně jako ojedinělé případy osteosarkomu, retinoblastomu, hepatoblastomu, non-Hodgkinova lymfomu (NHL), jasnobuněčného sarkomu ledvin, rakoviny močového měchýře, průdušek, prostaty, prstencové chrupavky štítné žlázy, varlat a dělohy.

ACS

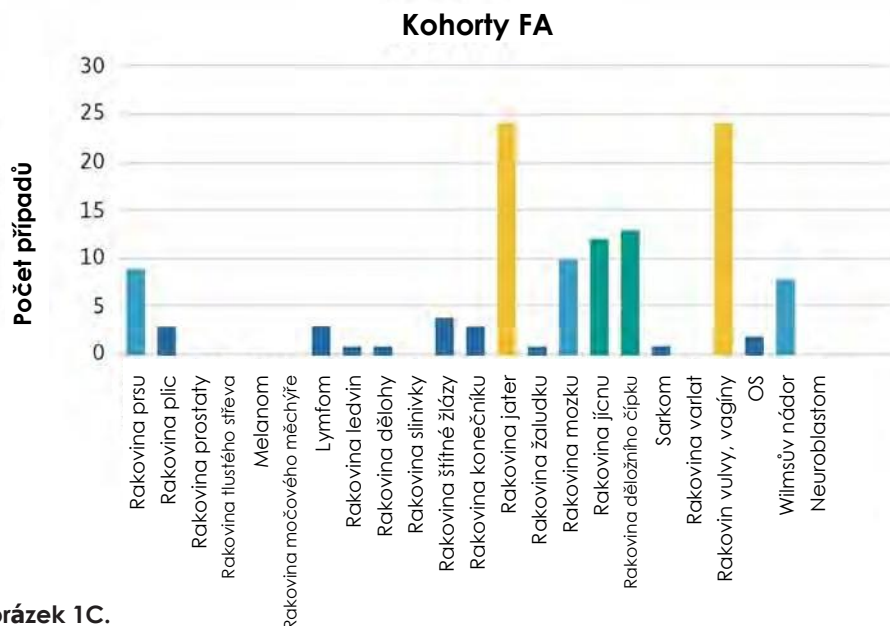


Obrázek 1A.

Případy FA



Obrázek 1B.

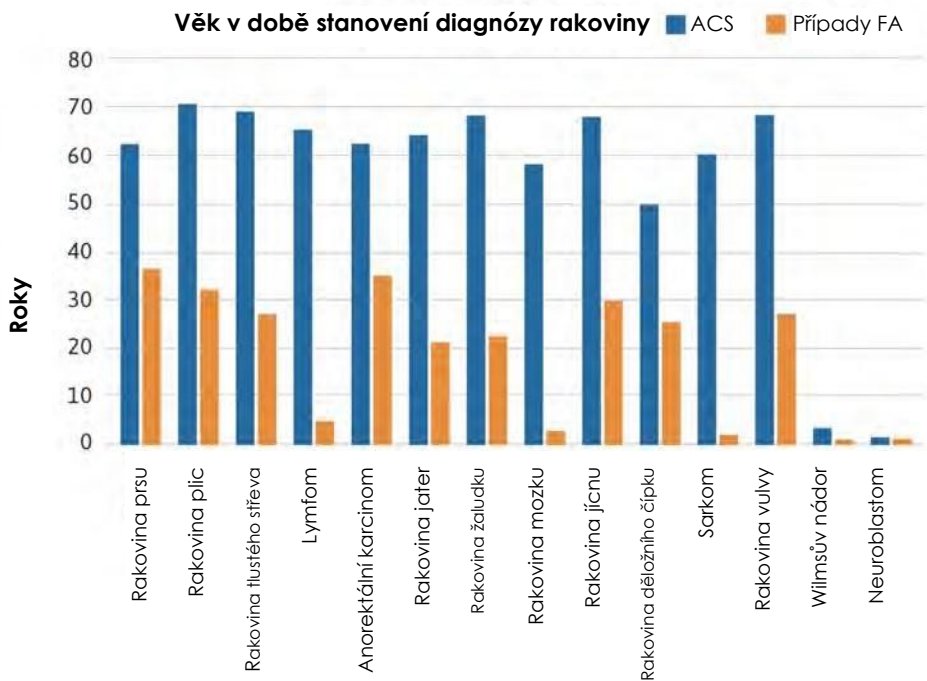


Obrázek 1C.

Obrázek 1. Počet případů nádorů jiných než HNSCC hlášených v obecné populaci USA nebo v odborné literatuře týkající se FA v letech 1927 až 2018. Na vodorovné ose jsou uvedeny druhy rakoviny seřazené podle četnosti výskytu, jak byla zaznamenána u populace USA. **1A.** Údaje od Americké onkologické společnosti (ACS) [2]. **1B.** Údaje z 2 630 případů FA uvedených v kazuistikách nebo sériích kazuistik. Údaje o jiných typech rakoviny než HNSCC jsou uvedeny ve stejném pořadí jako na obrázku 1A. **1C.** Údaje z více než 5 000 případů pacientů s FA, které byly zahrnuty do zpráv o kohortách, ale nebyly řešeny jednotlivě.

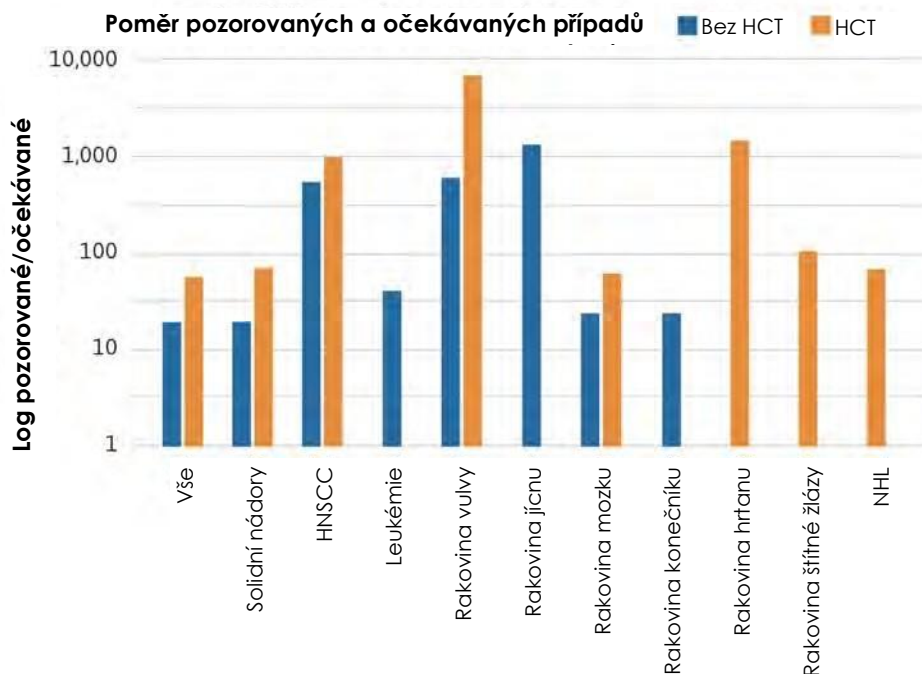
Výskyt a riziko vzácných solidních nádorů u pacientů s Fanconiho anémií

Většina vzácných nádorových onemocnění se u pacientů s FA projevila ve věku 20–40 let, ačkoli byly hlášeny případy nádorů jater již v dospívání, což mohlo souviset s užíváním androgenů v souvislosti se selháním kostní dřeně. Nádory mozku, Wilmsův nádor, neuroblastom a lymfom se obvykle objevovaly před 10. rokem věku, a to především u pacientů s mutacemi v genech FANCD1/BRCA2 a FANCN/PALB2. Všechny solidní nádory jiné než HNSCC se objevily u podstatně mladších pacientů než v obecné populaci, kde se medián věku u jakéhokoli typu solidních nádorů pohybuje mezi 60 a 70 lety (obrázek 2). Například u pacientů s FA ve věkovém rozmezí 20–30 let byly zaznamenány případy rakoviny jicnu, prsu, plic a žaludku. Je důležité poznamenat, že u přibližně 35 % případů byla diagnóza zhoubného nádoru (solidní nádory nebo AML) stanovena ještě před diagnózou FA [4].



Obrázek 2. Věk v době stanovení diagnózy rakoviny u pacientů s FA. Modré sloupce znázorňují údaje pro obecnou populaci, jejíž medián věku se u většiny druhů rakoviny pohybuje mezi 60 a 70 lety. Oranžové sloupce představují případy, u nichž byla FA hlášena na individuální úrovni, přičemž medián věku je nižší než 40 let (většina v rozmezí 20–30 let).

Povaha popisných údajů z kazuistik a sérií případů neumožňuje provádět sofistikovanější kvantitativní analýzy, jako jsou kumulativní incidence nebo poměry pozorovaných a očekávaných hodnot. Tyto typy analýz byly publikovány v rámci samostatných kohort [5–7] a nedávno byly aktualizovány pro kohortu NCI FA [1]. Na základě údajů z kohorty NCI byla znovu posouzena role HCT [8] a bylo zjištěno, že u pacientů po transplantaci se všechny solidní nádory, zejména HNSCC, vyskytovaly častěji než u pacientů, kteří transplantaci neabsolvovali (obrázek 3). Mezi nádorová ložiska, která se objevila po HCT, patřily HNSCC (zejména v dutině ústní), stejně jako nádory vulvy, hrtanu a mozku. Kromě toho patřily mezi druhy rakoviny vyskytující se výlučně u pacientů po transplantaci rakovina štítné žlázy a non-Hodgkinův lymfom (NHL) [1].



Obrázek 3. Poměr pozorovaných a očekávaných případů rakoviny v kohortě pacientů s Fanconiho anémií NCI. Tyto sloupce porovnávají pozorovaný počet případů s počtem očekávaným podle registru Surveillance Epidemiology and End Results, a to po zohlednění věku, pohlaví a kohorty narození. Údaje o standardním poměru incidence jsou logaritmičky převedeny, protože hodnoty se pohybují v rozmezí od 10 do více než 1000. Modré sloupce představují pacienty s FA, kteří nepodstoupili transplantaci hematopoetických buněk (HCT). Oranžové sloupce představují pacienty s FA, kteří podstoupili HCT. Údaje naznačují, že relativní riziko většiny nádorů typu FA (zejména HNSCC a SCC vulvy) je ve skupině pacientů po transplantaci vyšší. Navíc případy rakoviny hrtanu, štítné žlázy a non-Hodgkinova lymfomu se vyskytly pouze ve skupině pacientů po transplantaci [1].

Údaje z kohorty NCI rovněž umožnily stanovit poměr pozorovaných (O) a očekávaných (E) případů rakoviny, upravený s ohledem na věk, pohlaví a ročník narození, a to na základě údajů z programu SEER. Veličina O/E se často označuje jako standardizovaný incidenční poměr (SIR). Přesné výpočty ukazatele SIR nelze provést na základě kazuistik z odborné literatury, a to kvůli možnému zkreslení při uvádění případů (čitatel) a chybějícím informacím o tom, kolik osob by bylo v literatuře uvedeno, pokud by u nich došlo k rozvoji rakoviny (jmenovatel). Do kohorty NCI byli zařazeni všichni dostupní pacienti a byli soustavně sledováni, takže jak čitatel, tak jmenovatel byly jasně definovány. Některé ze vzácných typů rakoviny, které se vyskytují u pacientů s FA, jsou u osob stejného věku bez FA extrémně vzácné. Při posuzování rizika je nezbytné zohlednit věk. Poměry O/E u

vzácných druhů rakoviny nezohledňují věk a byly podobné vysokým poměrům pozorovaným u HNSCC a gynekologických nádorů (např. >1000násobek u rakoviny jícnu). Omezené údaje z kohorty NCI FA naznačují, že případy rakoviny, které se vyvinuly po HCT, představovaly vyšší riziko než případy u pacientů, kteří transplantaci neabsolvovali; navíc typy rakoviny, které se objevily u pacientů po transplantaci, se u pacientů bez transplantace obvykle nevyskytovaly (obrázek 3) [1, 8].

Hrubá míra výskytu solidních nádorů u pacientů s FA činí přibližně 5–20 %, vychází-li se z počtu hlášených solidních nádorů děleného celkovým počtem pacientů uvedených v literatuře od roku 1927. Údaje z kohorty NCI byly použity v analýzách konkurenčních rizik k určení, že kumulativní incidence nebo pravděpodobnost výskytu solidních nádorů jako první nežádoucí události činila ve věku 50 let přibližně 25 %. V hypotetickém scénáři, v němž bylo možné vyloučit závažné selhání kostní dřeně, činila kumulativní incidence solidních nádorů 75 % [8]. Zdá se, že nejčastějšími solidními nádory jsou HNSCC a gynekologické SCC. Ačkoli je absolutní počet vzácných solidních nádorů nízký, relativní riziko u některých z nich je stejně vysoké jako u HNSCC a gynekologického SCC, a absolutní riziko je natolik vysoké, že by pacienti měli být z tohoto hlediska pečlivě sledováni.

Sledování a léčba vzácných solidních nádorů

V tabulce 2 jsou uvedena doporučení ohledně sledování nádorů jiných než HNSCC a gynekologických SCC u pacientů s FA. Sledování solidních nádorů by mělo začít ve věku uvedeném v tabulce nebo dříve. U některých typů rakoviny neexistují žádná doporučení ohledně prevence a/nebo sledování. V případě jakýchkoli znepokojivých příznaků je vždy třeba poradit se s lékařem.

Tabulka 2: Sledování nádorů jiných než HNSCC a gynekologických SCC u pacientů s FA.

Druhy rakoviny	Prevence	Sledování	Nejnižší věk v době zjištění (roky)
Rakovina mozku		MRI mozku	Novorozenec
Wilmsův nádor		Ultrazvuk břicha	Novorozenec
Neuroblastom		Ultrazvuk	Novorozenec
Sarkom			<1
Lymfom			<1
Rakovina jater	V případě transfuze provést chelataci železa, vyvarovat se alkoholu, očkovat proti hepatitidě A	Ultrazvuk jater, jaterní enzymy	5

Druhy rakoviny	Prevence	Sledování	Nejnižší věk v době zjištění (roky)
	a B		
Rakovina vulvy, vagíny	HPV vakcína	Vyšetření od 16 let nebo od první menstruace	14
Rakovina jícnu	Vyvarovat se alkoholu a tabáku	Ezofagoskopie (obvykle vyžaduje anestezii)	20
Rakovina děložního čípku	HPV vakcína	Vyšetření od 16 let nebo od první menstruace	21
Rakovina prsu	Vyvarovat se alkoholu	Fyzické vyšetření, mamografie, ultrazvuk, MRI	23
Rakovina tlustého střeva	Vyvarovat se alkoholu	Kolonoskopie	21
Rakovina žaludku		Zvážit provedení testu na H. pylori a v případě pozitivního nálezu zahájit léčbu antibiotiky	21
Rakovina plic	Nekouřit	Neprovádět CT kvůli přílišnému ozáření	23
Rakovina kůže	Omezit pobyt na slunci a používat ochranu před sluncem (krém s ochranným faktorem, oblečení s dlouhými rukávy, klobouk)	Dermatologické vyšetření každých 6–12 měsíců nebo dříve	26
Rakovina ledvin		Ultrazvuk břicha	36

Mezi způsoby léčby solidních nádorů, včetně vzácných nádorů popsaných v této kapitole, u pacientů, kteří netrpí FA, patří operace, ozařování a chemoterapie. Možnosti léčby solidních nádorů u pacientů s FA jsou omezené. Pokud je to možné, nejvhodnějším postupem je chirurgický zákrok. Ozařování může být účinné, i když může vést ke komplikacím, jako jsou kožní reakce, mukozitida, vředy atd.

Omezení studie

Údaje, které jsou v této kapitole analyzovány, mají několik omezení. Někteří pacienti mohli být nahlášeni více než jednou. Pacienti, o nichž se zmiňuje starší literatura, mohli být nesprávně zařazeni a nemuseli trpět FA. Mohlo docházet ke zkreslení při nahlášení, k nadměrnému vykazování případů s rakovinou a k nedostatečnému vykazování případů bez rakoviny. Vzhledem k tomu, že výskyt rakoviny závisí na věku a mnoho případů bylo nahlášeno u malých dětí, u nichž se nádory mohly vyvinout až po nahlášení, může být kumulativní incidence rakoviny vyšší, než vyplývá z publikovaných údajů. Tento přehled literatury vycházel především z případů popsaných v angličtině, a proto mohly být případy popsané v jiných jazycích opomenuty. U případů popsaných v sériích, které se zaměřovaly na gen a mutaci, mohl být popis klinických problémů, včetně rakoviny, nedostatečně podrobný.



Shrnutí

Pacienti s FA jsou vystaveni vysokému riziku vzniku dlaždicobuněčného karcinomu hlavy a krku (HNSCC) (viz kapitola 5) a dalších typů rakoviny jiných než HNSCC, jako je například gynekologický dlaždicobuněčný karcinom (viz kapitola 7). Tato kapitola shrnuje typy a výskyt všech vzácných solidních nádorů jiných než HNSCC v kohortách, jakož i kazuistiky a série pacientů s FA, o nichž se zmiňuje lékařská literatura za období od roku 1927 do roku 2018. Data ukazují, že vzácné solidní nádory se u pacientů s FA vyskytují s jinou četností než u obecné populace. Pět nejčastějších typů rakoviny jiných než HNSCC, které byly diagnostikovány v kazuistikách a sériích případů u pacientů s FA, jsou rakovina mozku, Wilmsův tumor, rakovina jater, rakovina jícnu a rakovina vulvy. Je důležité poznamenat, že většina nádorů jiných než HNSCC, které se objevují u pacientů s FA, se vyskytla v podstatně mladším věku (20–50 let) ve srovnání s obecnou populací (60–70 let). Údaje rovněž ukazují, že u pacientů léčených transplantací hematopoetických buněk vzniká vyšší riziko nádorů než u pacientů, kteří transplantaci neabsolvovali. Léčba nádorů jiných než HNSCC pomocí metod, které se v současné době používají u běžné populace, jako je radioterapie a/nebo chemoterapie, je u pacientů s FA obecně kontraindikována z důvodu vysoké toxicity.

Chirurgické odstranění je v současné době nejlepším přístupem k léčbě solidních nádorů u pacientů s FA; k včasnému odhalení neoplastických lézí jsou však zapotřebí zdokonalené screeningové metody. Je naléhavě zapotřebí výzkum zaměřený na nalezení optimálních způsobů diagnostiky, prevence a léčby vzácných solidních nádorů u pacientů s FA.

Fond pro výzkum Fanconiho anémie oceňuje autorské příspěvky k 5. vydání:

Blanche P. Alter, MD, MPH, FAAP*

Moises Fiesco-Roa, MD

Philip S. Rosenberg, PhD

**Předseda odborné komise*

Použitá literatura

1. Alter, B.P., et al., *Cancer in the National Cancer Institute inherited bone marrow failure syndrome cohort after fifteen years of follow-up*. Haematologica, 2018. 103(1): str. 30-39.
2. Siegel, R.L., K.D. Miller a A. Jemal, *Cancer statistics, 2019*. CA Cancer J Clin, 2019. 69(1): str. 7-34.
3. *Surveillance Research Program, National Cancer Institute SEER*Stat Software (seer.cancer.gov/seerstat) verze 8.3.5. 2019.*
4. Alter, B.P., *Cancer in Fanconi anemia, 1927-2001*. Cancer, 2003. 97: str. 425-40.
5. Alter, B.P., et al., *Malignancies and survival patterns in the National Cancer Institute inherited bone marrow failure syndromes cohort study*. Br J Haematol, 2010. 150(2): str. 179-88.
6. Rosenberg, P.S., B.P. Alter, and W. Ebell, *Cancer risks in Fanconi anemia: findings from the German Fanconi Anemia Registry*. Haematologica, 2008. 93(4): str. 511-17.
7. Tamary, H., et al., *Frequency and natural history of inherited bone marrow failure syndromes: the Israeli Inherited Bone Marrow Failure Registry*. Haematologica, 2010. 95(8): str. 1300-07.
8. Rosenberg, P.S., et al., *Risk of head and neck squamous cell cancer and death in patients with Fanconi Anemia who did and did not receive transplants*. Blood, 2005. 105: str. 67-73.

Kapitola 5

Rakovina hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií

Úvod

Dlaždicobuněčný karcinom hlavy a krku (HNSCC) se u pacientů s Fanconiho anémií (FA) vyskytuje výrazně častěji než v obecné populaci. Tato kapitola poskytuje přehled o HNSCC u pacientů s FA. Soustředí se zejména na včasnou detekci, rizikové faktory, diagnostiku a v současné době dostupné možnosti léčby. U pacientů s FA jsou nádory hlavy a krku diagnostikovány v mladším věku (20–50 let) a často již v pokročilém stadiu. Základní léčbou pacientů s FA trpících HNSCC je operace, nicméně výsledky jsou neuspokojivé, pokud je diagnóza stanovena až v pokročilém stadiu. Pacienti s FA také trpí závažnými toxickými účinky systémových chemoterapií používaných k léčbě HNSCC u obecné populace. Přesné rizikové faktory spojené s HNSCC u pacientů s FA dosud nebyly definovány, ačkoli studie prokázaly, že poruchy opravy DNA spojené s tímto onemocněním, vyšší věk a reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) po transplantaci hematopoetických buněk (HCT) korelují se zvýšeným rizikem vzniku HNSCC.

Pacienti s FA by se měli vyhýbat rizikovým faktorům s prokázanou příčinnou souvislostí u obecné populace, jako je kouření a konzumace alkoholu. Doporučuje se, aby se včasné sledování formou ústní prohlídky zahajovalo již v raném věku.

Rakovina hlavy a krku v obecné populaci

Rakoviny hlavy a krku zahrnují širokou škálu nádorů, které obvykle vznikají v dlaždicových buňkách, jimiž jsou pokryty povrchy sliznic ústní dutiny, nosní dutiny, hltanu a hrtanu. Tyto nádory se často označují jako dlaždicobuněčné (syn. skvamocelulární, spinocelulární) karcinomy hlavy a krku (HNSCC). Ve Spojených státech je každoročně diagnostikována rakovina hlavy a krku přibližně u 30 000 osob a asi 30 % z těchto pacientů na nemoc umírá.

HNSCC se stále více stává mezinárodním zdravotním problémem; celosvětově představuje pátý nejčastější typ rakoviny a pátou nejčastější příčinu úmrtní na rakovinu [1].

Drtivá většina případů HNSCC (více než 90 %) vzniká v důsledku expozice karcinogenům, mezi něž patří tabák a alkohol [2, 3], betelový ořech [4], virus Epstein-Barrové (EBV) a pohlavně přenosné virové patogeny, jako je lidský papilomavirus (HPV) [5]. Rakoviny hlavy a krku jsou typickými příklady nádorových onemocnění souvisejících s kouřením. Riziko vzniku HNSCC a z toho vyplývající riziko vzniku dalších primárních nádorů v horních dýchacích cestách a zažívacím traktu lze přímo přičíst délce trvání a intenzitě expozice tabáku. Rakovina související s tabákem se může vyskytnout i u nekuřáků v důsledku vystavení pasivnímu kouření. Odhaduje se, že dlouhodobá konzumace alkoholu zvyšuje riziko vzniku HNSCC dvakrát až třikrát, a to v závislosti na dávce. Kromě toho mají lidé, kteří konzumují tabák i alkohol, až 10–20krát vyšší riziko vzniku HNSCC než lidé, kteří tabák ani alkohol nekonzumují. Přibližně 5 % případů HNSCC se objevuje u osob, které nekouří ani nekonzumují alkohol. Nejnovější poznatky naznačují, že při vzniku HNSCC může hrát roli HPV, přičemž HPV byl zjištěn u více než 70–80 % případů rakoviny orofaryngu.

Rakovina hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií

Dlaždicobuněčný karcinom hlavy a krku (HNSCC) je nejčastějším solidním nádorem u pacientů s FA. Výskyt HNSCC u pacientů s FA je 500 až 700krát vyšší než v obecné populaci [6–9]. Hlavní příčinou úmrtí u dospělých pacientů s FA je HNSCC a riziko se s věkem zvyšuje. V některých případech je diagnóza nádorů HNSCC stanovena ještě před diagnózou FA [10]; proto by se u pacientů mladších 40 let, u nichž byl diagnostikován HNSCC, mělo zvážit vyšetření na FA, zejména pokud se u nich vyskytují atypické nálezy, jako je hraniční anémie nebo atypická reakce na cytotoxickou léčbu.

Ve srovnání s obecnou populací se u pacientů s FA výrazně liší věk nástupu onemocnění, rozšíření a průběh HNSCC. U pacientů s FA bývá HNSCC diagnostikován obvykle ve věku 20–50 let [10], zatímco u osob z obecné populace bývá tato diagnóza stanovena obvykle ve věku 60–70 let. U pacientů s FA se ve srovnání s obecnou populací vyskytuje také vyšší podíl HNSCC v ústní dutině (přibližně 65 %), přičemž v drtivé většině případů se jedná o nádory jazyka. Kromě toho je u pacientů s FA ve srovnání s obecnou populací mnohem vyšší podíl případů HNSCC diagnostikovaných v pokročilých stádiích. Navzdory agresivní léčbě je prognóza HNSCC u pacientů s FA výrazně horší než u obecné populace. Navíc i po vyléčení primárního HNSCC je u pacientů s FA vyšší pravděpodobnost vzniku dalších primárních nádorů než u běžné populace (více než 60 % oproti přibližně 30 %) [10]. Anatomické rozložení dalších primárních nádorů se u pacientů s FA rovněž výrazně liší od rozložení v běžné populaci. Zatímco u pacientů s HNSCC v běžné populaci se další primární nádory obvykle vyskytují v plicích a jícnu, u pacientů s FA se další primární nádory objevují v oblasti hlavy a krku, v urogenitálním traktu a na kůži. Je zajímavé, že charakteristika dalších primárních nádorů u pacientů s FA se podobá charakteristice pozorované u HNSCC souvisejícího s HPV v běžné populaci [11].

Rizikové faktory spojené s rakovinou hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií

Díky výraznému zlepšení výsledků transplantací kostní dřeně se dnes většina lidí s FA dožívá dospělosti. S přibývajícím věkem dochází u těchto pacientů k výraznému nárůstu výskytu rakoviny, která v současné době představuje hlavní příčinu úmrtí v dospělé populaci s FA. U pacientů s FA představuje již samotný věk významný rizikový faktor pro vznik HNSCC. HNSCC je u nich diagnostikován dříve než u běžné populace (20–50 let oproti 60–70 let) a riziko se s věkem výrazně zvyšuje. K tomuto riziku spojenému s věkem významně přispívá také kumulativní genomová nestabilita způsobená poruchami opravy DNA, které jsou charakteristickým rysem FA [12].

Pacienti s FA mají nejvyšší riziko vzniku HNSCC ze všech pacientů s dědičnými genetickými syndromy (např. Li-Fraumeniho syndrom a Bloomův syndrom). Na rozdíl od osob s dědičnou mutací v genu retinoblastomu (RB), u nichž se téměř u všech vyvinou nádory sítnice, ne u všech pacientů s FA se vyvine HNSCC. Stejně jako v případech souvislosti mezi expozicí záření a vznikem sarkomů vysokého stupně u pacientů s dědičnou mutací genu RB je i u pacientů s FA pro vznik HNSCC pravděpodobně zapotřebí jeden či více spolupůsobících faktorů. Přesné příčiny a spolupůsobící faktory zvýšeného rizika HNSCC u pacientů s FA dosud nebyly objasněny. Typ mutace FA a závažnost projevů nebyly s rozvojem HNSCC jednoznačně spojeny. Studie z roku 2004 [13] naznačuje, že transplantace kostní dřeně zvyšuje riziko vzniku HNSCC u pacientů s FA, přičemž toto zvýšené riziko bylo přisuzováno především vzniku akutní a/nebo chronické reakce štěpu proti hostiteli (GvHD). U velkého počtu pacientů s FA, kteří HCT nikdy nepodstoupili, se však rovněž vyvine HNSCC [14]. Souvislost mezi GvHD a HNSCC byla také připuštěna u pacientů, kteří netrpí FA [15]. U pacientů s FA je konzumace tabáku a alkoholu uváděna méně často než v běžné populaci; přesto však obě tyto látky zůstávají významnými rizikovými faktory pro vznik HNSCC u pacientů s FA. Většina studií potvrzuje úlohu HPV u gynekologických malignit, avšak jeho přesný podíl na vzniku HNSCC u pacientů s FA zůstává sporný. Některé studie [16, 17] naznačují, že HPV může být významným faktorem přispívajícím k rozvoji HNSCC u pacientů s FA, zatímco jiné studie [18, 19] tyto výsledky zpochybňují. Laboratorní studie ukazují, že mutace v genech způsobujících FA zvyšují náchylnost ke karcinogenezi vyvolané virem HPV [20, 21]. Celkově lze z vědecké literatury vyvodit, že k rozvoji HNSCC u pacientů s FA přispívá řada faktorů, ačkoli přesný podíl jednotlivých faktorů zatím nebyl přesně stanoven.

Prevence rakoviny hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií

Zdržení se konzumace alkoholu a tabáku

Příčinná souvislost mezi expozicí tabáku a alkoholu a vznikem HNSCC je dobře prokázána. Užívání tabáku a tabákových výrobků by mělo být kategoricky odmítáno, včetně vystavení pasivnímu kouření. Také užívání marihuany a elektronických cigaret bylo spojeno s výskytem HNSCC v běžné populaci [22]; pacientům s FA se proto doporučuje, aby se zdrželi užívání těchto látek. Ačkoli je nejlepší se alkoholu zcela zdržet, osoby, které alkohol konzumují, by měly omezit jeho příjem na maximálně jeden ekvivalent nápoje za měsíc. Rovněž se nedoporučuje dlouhodobé používání ústních vod obsahujících alkohol (viz kapitola 6).

Péče o ústní hygienu

Několik studií naznačuje, že špatná ústní hygiena a chronické, opakované fyzické trauma dutiny ústní mohou přispívat k rozvoji HNSCC [23–25], ačkoli důkazy zatím nejsou jednoznačné. Proto se doporučuje dodržovat správnou ústní hygienu a pravidelně chodit na zubní prohlídky. Vzhledem k tomu, že neexistují důkazy naznačující příčinnou souvislost s HNSCC, není u pacientů s FA nutné omezovat používání ústních pomůcek, zubních rovnátek a zubních rentgenových snímků. Toto téma je probíráno v kapitole 6.

Očkování proti lidskému papilomaviru

Úloha lidského papilomaviru (HPV) ve vzniku HNSCC u pacientů s FA je sporná [16, 17, 19, 26, 27] a je zapotřebí dalších studií. Navzdory polemikám se doporučuje, aby pacienti i pacientky s FA byli očkováni proti HPV již v raném věku [28, 29]. Podrobná doporučení ohledně očkování pro pacientky s FA najdete v kapitole 7.

Sledování nádorů hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií

Vysoký výskyt HNSCC v kombinaci s nepříznivým průběhem tohoto onemocnění u pacientů s FA podtrhuje nutnost pečlivého sledování pacientů z hlediska projevů HNSCC. Sledování by mělo začít ve věku 10 let, což vychází z údajů v odborné literatuře o nejnižším věku, v němž byl HNSCC diagnostikován [8, 10]. V ústní dutině pacientů s FA se často vyskytuje více lézí. Rozlišení podezřelých lézí od těch, které nejsou nádorového původu, vyžaduje zapojení lékaře se značnými zkušenostmi s vyhodnocováním a léčbou HNSCC u pacientů s FA. Kvalifikovaní odborníci mohou mít vzdělání v oboru stomatologie, ústní chirurgie, otolaryngologie nebo všeobecné chirurgie, doplněné specializovaným školením v oblasti diagnostiky a/nebo léčby HNSCC. Pravidelné screeningové vyšetření na rakovinu ústní dutiny prováděné zubním lékařem může doplňovat důkladné screeningové vyšetření na HNSCC, nemělo by jej však nahrazovat.

Prohlídka úst

Podrobné vyšetření hlavy a krku u pacientů s FA by mělo být prováděno jednou za půl roku. Mezi místa s rizikem vzniku HNSCC patří celá oblast horního dýchacího a trávicího ústrojí. Proto je třeba důkladně vyšetřit všechny slizniční povrchy v oblasti hlavy a krku. Ústní dutina, která je u pacientů s FA nejčastějším místem výskytu HNSCC, a proximální část orofaryngu lze účinně vyšetřit vizuálně a hmatem přímo ústy. Vyšetření distální části orofaryngu, nazofaryngu, hrtanu a hypofaryngu vyžaduje použití buď transorálního zrcátka, nebo ohebného laryngoskopu. Ačkoli u pacientů s FA je výskyt dlaždicobuněčného karcinomu (SCC) v krční části jícnu vyšší než u obecné populace [30], rutinní využívání ezofagoskopie ke screeningu se nedoporučuje. Je třeba zvážit vyšetření na

rakovinu jícnu na základě příznaků. U každého pacienta s odynofagií, dysfagií nebo jinými lokalizačními příznaky je vhodné provést vyšetření pomocí baryové kontrastní látky a/nebo ezofagoskopii.

Význam kartáčkové biopsie u pacientů s Fanconiho anémií

V ústní dutině pacientů s FA se často vyskytuje více lézí podobných leukoplakií, které obvykle nejsou zhoubné. V minulosti se všechny podezřelé léze diagnostikovaly výhradně pomocí incizní tkáňové biopsie. Včasně sledování vývoje nádorů v oblasti hlavy a krku je u pacientů s FA zásadní; provádění četných incizních biopsií podezřelých lézí je však invazivní a bolestivé. Pacienti s FA proto potřebují alternativní a účinné strategie včasného sledování, které nezpůsobují rozsáhlé poškození tkání. Před čtrnácti lety zahájil lékařský tým z Německa studii, jejímž cílem bylo zjistit, zda lze pomocí neinvazivního postupu zvaného kartáčková biopsie přesně rozlišit prekancerózní a maligní tkáň u rozsáhlé kohorty pacientů s FA. Tato studie, publikovaná v roce 2020, prokázala, že u 713 pacientů s FA z celého světa bylo díky pečlivému vyšetření ústní dutiny, následovanému kartáčkovou biopsií a cytologií, možné identifikovat premaligní a maligní léze s vysokou citlivostí (97,7 %) a specificitou (84,5 %). Doplnění cytologického vyšetření vzorků z kartáčkové biopsie o analýzu ploidie DNA zvýšilo citlivost a specificitu na 100 %, respektive 92,2 % [31]. Jedná se o velmi významný poznatek, neboť 63 % lézí ve studii bylo diagnostikováno jako premaligní nebo počáteční stadium rakoviny a bylo možné je vyléčit prostřednictvím chirurgického zákroku.

Je důležité zdůraznit, že jakmile jsou podezřelé léze na základě kartáčkové biopsie identifikovány jako prekancerózní nebo rakovinné, je třeba je neprodleně podrobit incizní biopsii. Podezřelé léze, u nichž se na základě kartáčkové biopsie neprokázalo, že by se jednalo o prekancerózní nebo cancerózní léze, by měly být pečlivě sledovány. Stabilita nebo zmenšení léze může sloužit jako ukazatel pro pokračování v pozorování. Růst nebo změny znaků léze (tj. ztlustění nebo erytroplakie) vyžadují další pozornost.

Léčba rakoviny hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií

K léčbě HNSCC u obecné populace se používají chirurgické zákroky, ozařování a chemoterapie – buď samostatně, nebo v kombinaci. Obecně platí, že onemocnění v raném stadiu se léčí buď chirurgicky, nebo radioterapií, zatímco onemocnění v pokročilém stadiu vyžaduje multimodální léčbu spočívající v chirurgickém zákroku následovaném ozařováním, a to s chemoterapií nebo bez ní, případně souběžnou léčbou v podobě chemoradioterapie. Zatímco u obecné populace lze využít všechny tyto přístupy, u pacientů s FA je využití chemoterapie a radioterapie omezeno kvůli závažným nežádoucím účinkům. Proto je u pacientů s FA zapotřebí provést určité změny v léčbě HNSCC.

Lékařský tým

Optimální léčba HNSCC vyžaduje lékařský tým, jehož součástí jsou nejen chirurgové (specialisté na onkologickou a rekonstrukční chirurgii), radiační onkologové a onkologové, ale také specializovaní zubní lékaři, ústní chirurgové, logopedi, zdravotní sestry a řada dalších odborníků. Tento tým by měl úzce spolupracovat s dalšími odborníky na FA, aby byla poskytována komplexní péče.

Přístup k léčbě rakoviny hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií Léčbu HNSCC u pacientů s FA komplikují následující faktory, kvůli kterým je u těchto pacientů preferovanou léčebnou metodou chirurgický zákrok:

- Nádory u pacientů s FA bývají velmi agresivní a často jsou zjištěny až v pokročilých stádiích.
- Nerakovinné buňky pacientů s FA jsou citlivější na léčbu, která způsobuje křížové vazby v DNA, jako je například chemoterapeutikum cisplatina a externí ozařování – dva hlavní pilíře léčby HNSCC u obecné populace.
- Buňky HNSCC u pacientů s FA nejsou na látky způsobující křížové vazby v DNA tak citlivé jako nerakovinné buňky. HNSCC u pacientů s FA proto nereaguje na subterapeutické dávky záření. Proto je chirurgický zákrok u pacientů s FA preferovanou léčebnou metodou.

Doporučení pro chirurgickou léčbu rakoviny hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií

Na rozdíl od jiných modalit léčby je léčba HNSCC pomocí chirurgického zákroku u pacientů s FA dobře snášena a u malých nádorů bez metastáz do lymfatických uzlin může vést k dlouhodobé lokální kontrole [32]. U pacientů s FA se neprojevuje žádné významné zvýšení výskytu komplikací po operaci, včetně infekcí ran nebo dlouhodobých negativních vedlejších účinků spojených s pooperačními jizvami. V souladu s tím panuje všeobecná shoda, že chirurgický zákrok by měl být považován za primární léčebnou metodu u všech pacientů s FA, u nichž dojde k rozvoji HNSCC.

Úspěšný výsledek operace hlavy a krku vyžaduje multidisciplinární předoperační vyšetření a optimalizaci stavu pacienta, intraoperačních postupů a pooperační péče. Aby se minimalizovala rizika spojená s operací, měli by pacienti s FA podstoupit komplexní lékařské vyšetření u hematologa, který má zkušenosti s léčbou pacientů s FA. V závislosti na rozsahu operace a očekávaných výsledcích by měl být před operací konzultován specialista na léčbu bolesti a psychiatr, kteří pacientovi pomohou vyrovnat se s případnými negativními následky.

Operace HNSCC u pacientů s FA by měla probíhat podle stejných parametrů, jaké byly stanoveny pro obecnou populaci. Obecně by mělo být provedeno rozsáhlé a úplné odstranění primárního nádoru s dostatečnými okraji. Přesný typ a

rozsah chirurgické resekce by měl být určen podle primárního ložiska, velikosti a rozsahu nádoru. Rozsáhlé nádory, které postihují více oblastí hlavy a krku, by měly být odstraněny otevřeným chirurgickým zákrokem, stejně jako u obecné populace. Menší nádory, ke kterým je zajištěn přístup, lze však odstranit transorálně pomocí robotických nebo laserových nástrojů. Obecně platí, že nádory ústní dutiny a hltanu by měly být odstraněny spolu s okraji o šířce nejméně 1 cm. U nádorů hrtanu nemusí být resekční okraje tak rozsáhlé, a to vzhledem k specifické biologii karcinomů hrtanu a anatomii hrtanu.

Léčba oblasti krku se rovněž řídí zásadami stanovenými pro léčbu HNSCC u obecné populace. Obecně lze říci, že u nádorových onemocnění, která jsou klinicky klasifikována jako stadium N0 s vysokým rizikem skrytých metastáz nebo jako onemocnění v malém rozsahu ve stadiu N1, lze jako léčbu zvolit selektivní krční disekci, zatímco u pokročilejšího regionálního onemocnění může být nutná modifikovaná krční disekce nebo dokonce radikální krční disekce. Nedávná studie u pacientů bez FA ukázala, že elektivní disekce lymfatických uzlin u pacientů s nádory ústní dutiny a stupněm N0 v krční oblasti je spojena se významným zlepšením celkového přežití [33].

Proto se doporučuje, aby byla elektivní disekce lymfatických uzlin rovněž zahrnuta do léčebného postupu u pacientů s FA, kteří trpí rakovinou ústní dutiny.

Rekonstrukce defektu primárního ložiska by měla probíhat v souladu s pokyny stanovenými pro rekonstrukci u pacientů s HNSCC v obecné populaci a neměla by být omezena na základě přítomnosti FA. V několika kazuistikách bylo popsáno úspěšné použití rekonstrukce volným lalokem u pacientů s FA [34–36]. Proto by se mělo v indikovaných případech bez omezení uvažovat o použití volných laloků k rekonstrukci. Konkrétní podrobnosti chirurgické léčby jsou popsány v jiných zdrojích [37, 38].

Radioterapie rakoviny hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií Radioterapie je u pacientů s FA spojena se závažnými negativními následky a mnoho pacientů není schopno absolvovat celý cyklus ozařování. Riziko úmrtí v důsledku negativních následků ozařování dosahuje až 50 %. Úmrtí může být způsobeno lokálními účinky, ale významnou roli hrají také systémové účinky, jako je selhání kostní dřeně. Pacienti, kteří přežijí radioterapii, čelí závažným vedlejším účinkům, mezi něž patří sucho v ústech, poruchy polykání, zúžení jícnu, otok hrtanu a rozpad rány. Radioterapie by proto měla být u pacientů s FA používána pouze v případech, kdy je pro zvládnutí onemocnění naprosto nezbytná.

V případě, že má být použita radioterapie, je nutné pacienty s FA pečlivě sledovat, zda se u nich neobjeví příznaky závažné toxicity. Je důležité mít na paměti, že nádorové buňky u pacientů s FA nevykazují zvýšenou citlivost na účinky záření (na rozdíl od nádorových buněk u většiny jedinců z běžné populace).

Léčba ozařováním by proto měla být plánována s použitím stejných dávek, jaké se používají při léčbě pacientů bez FA. Radiační citlivost normálních tkání u pacientů s FA je důvodem k obavám, neboť existuje několik kazuistik popisujících závažnou mukozitidu v ústní dutině u pacientů s FA po ozáření dávkami 10–20 Gy při použití konvenčních ozařovacích polí pokrývajících celou ústní dutinu. Tyto klinické projevy byly obvykle spojovány s konvenční frakcionací dávky v rozsahu 1,8–2,0 Gy denně, pět dní v týdnu, na cílový objem zahrnující celou ústní dutinu a orofaryng.

Byl navržen postup, při kterém se ozařuje malá oblast o rozměrech 5 cm × 5 cm po dobu jednoho týdne (pět frakcí) sníženou frakcí 0,5 Gy, přičemž se každý den provádí vyšetření zaměřené na mukozitidu a denní vyšetření krevního obrazu. U pacientů s FA i u zvířecích modelů FA [39–41] s radiosenzitivitou byl prokázán významný abskopální útlum kostní dřeně a leukopenie. Pacienti, kteří snášejí první týden léčby se zmenšeným ozařovacím polem a sníženou velikostí frakce, mohou poté pokračovat druhým týdnem se stejnou velikostí ozařovacího pole, avšak s konvenčním frakcionováním 1,8–2,0 Gy denně. Dále je třeba pokračovat v každodenním sledování mukozitidy prostřednictvím fyzického vyšetření a krevního obrazu. Pacienti, kteří tuto léčbu snášejí, mohou poté přejít na ozařování celého klinického cílového objemu se sníženou velikostí frakce na 0,5 Gy denně. Následně, pokud se nevyskytuje závažná mukozitida ani leukopenie, mohou pacienti přejít k úplné radioterapii s konvenční velikostí frakcí a plným cílovým objemem, a to v obvyklé pooperační dávce 55–60 Gy. Pooperační radioterapie u nádorů ústní dutiny je obvykle indikována v případě pozitivních okrajů resekce a/nebo pozitivních regionálních lymfatických uzlin.

Systémová léčba rakoviny hlavy a krku

Systémová léčba s využitím činidel pro křížové vazby a dalších cílených terapií je nedílnou součástí léčby lokálně pokročilého, recidivujícího a/nebo metastatického HNSCC u běžné populace. Pacienti s FA nemohou být z důvodu vysoké toxicity bezpečně léčeni látkami způsobujícími křížové vazby v DNA. Další necytotoxické cílené terapie mohou představovat přijatelnou alternativu, je však zapotřebí dalšího výzkumu, aby bylo možné lépe pochopit jejich účinky u pacientů s FA.

Chemoterapie na bázi platiny u obecné populace

U pacientů z běžné populace s chirurgicky odstraněným HNSCC bylo v randomizovaných studiích prokázáno, že cisplatina (100 mg/m² intravenózně jednou za 21 dní) podávaná souběžně s pooperační radioterapií zlepšuje lokoregionální kontrolu a celkové přežití [42, 43]. Souhrnná analýza dvou klinických studií fáze III prokázala, že pacienti s pozitivními okraji a/nebo extrakapsulárním rozšířením do lymfatických uzlin měli největší prospěch z přidání chemoterapie k pooperační radioterapii [44]. Na základě těchto výsledků léčebné pokyny v současné době doporučují u pacientů s těmito rizikovými faktory adjuvanční

souběžnou chemoradioterapii na bázi cisplatiny.

U pacientů s lokálně pokročilým onemocněním, kteří jsou léčeni nechirurgicky s kurativním záměrem, bylo v prospektivních klinických studiích a metaanalýzách prokázáno, že kombinace chemoterapie na bázi platiny s radioterapií zlepšuje lokoregionální kontrolu a celkové přežití ve srovnání se samotnou radioterapií. Tyto studie prokázaly absolutní zlepšení 5letého přežití přibližně o 6,5 % [45, 46]. V důsledku toho se souběžná chemoradiační léčba na bázi platiny stala standardní možností nechirurgické léčby lokálně pokročilého HNSCC. Přidání cytotoxické chemoterapie k radioterapii však bylo spojeno se zvýšeným výskytem nežádoucích účinků, včetně mukozitidy, dermatitidy, kožních toxicit a nutnosti zavedení výživové sondy [45].

Inhibice receptoru epidermálního růstového faktoru u obecné populace

Cetuximab (Erbix) je monoklonální protilátka, která inhibuje receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) a používá se k léčbě pacientů s lokálně pokročilým HNSCC. V randomizované klinické studii fáze III bylo prokázáno, že cetuximab v kombinaci s definitivní radioterapií zlepšuje lokoregionální kontrolu a přežití u pacientů s nádory orofaryngu, hrtanu a hypofaryngu [47]. Na základě těchto výsledků byl cetuximab schválen regulačními orgány po celém světě k použití v této indikaci. Cetuximab má příznivější profil nežádoucích účinků než cytotoxická chemoterapie. Mezi klinicky významné nežádoucí účinky vyvolané cetuximabem patří kožní vyrážka, hypomagnezémie, hypersenzitivní reakce stupně 3–5 (u přibližně 3 % pacientů) a mírný nárůst výskytu mukozitidy vyvolané radioterapií. Krevní toxicita se při souběžném podávání cetuximabu a radioterapie obvykle nevyskytuje. Souběžná léčba cetuximabem a radioterapií byla nedávno přímo porovnána se souběžnou léčbou cisplatinou a radioterapií ve dvou randomizovaných studiích u pacientů s HPV-souvisejícími, lokálně pokročilými nádory orofaryngu, kteří byli léčeni nechirurgicky. Tyto studie prokázaly horší lokoregionální kontrolu u pacientů léčených cetuximabem [48, 49]. Proto je souběžná léčba cisplatinou a radioterapií i nadále považována za standardní postup u většiny pacientů s lokálně pokročilým HNSCC souvisejícím s HPV i nesouvisejícím s HPV, kteří jsou léčeni bez chirurgického zákroku. V současné době probíhají studie zaměřené na hodnocení úlohy cetuximabu v pooperačním období.

Systémová léčba recidivujícího nebo metastatického onemocnění u obecné populace

U pacientů s recidivujícím a/nebo metastatickým onemocněním je základem léčby systémová terapie pomocí monoterapie (cisplatina, taxany, 5-fluorouracil nebo methotrexát) nebo kombinované terapie na bázi platiny (kombinace léčiva na bázi platiny s dalšími chemoterapeutickými látkami), jejímž cílem je zachovat kvalitu života a prodloužit přežití. Cetuximab vykazuje účinnost v monoterapii a v

randomizované studii fáze III bylo prokázáno, že prodlužuje přežití, je-li podáván jako doplněk k léčbě první linie založené na platině a 5-fluorouracilu [50]. V poslední době se jako nová strategie léčby recidivujícího a/nebo metastatického onemocnění prosadila imunoterapie. Imunoterapie má odlišný mechanismus účinku než chemoterapie. Stimuluje imunitní systém pacienta, aby rozpoznal a zničil rakovinné buňky. Vedlejší účinky spojené s imunoterapií jsou proto odlišné a obvykle méně závažné než u chemoterapie a spočívají převážně v autoimunitních reakcích, které jsou důsledkem poškození normálních buněk aktivovaným imunitním systémem. Imunoterapie přináší úlevu také relativně malému počtu pacientů. Je-li však imunoterapie účinná, může vést k dlouhodobější kontrole onemocnění ve srovnání s chemoterapií a/nebo cetuximabem. Ukázalo se, že imunoterapeutické léky nivolumab a pembrolizumab, které působí proti receptoru PD-1 (programmed death-1), prodlužují přežití ve srovnání se standardními léčebnými postupy u pacientů, u nichž selhala léčba na bázi platiny [51, 52]. U dosud neléčených pacientů s recidivujícím a/nebo metastatickým onemocněním se rovněž prokázalo, že pembrolizumab podávaný samostatně (u vybraných pacientů) nebo v kombinaci s chemoterapií zlepšuje přežití ve srovnání se standardním léčebným režimem spočívajícím v chemoterapii v kombinaci s cetuximabem.

Systémová léčba rakoviny hlavy a krku u pacientů s Fanconiho anémií

Použití chemoterapie – zejména látek poškozujících DNA – u pacientů s FA představuje problém, a to zejména s ohledem na selhání kostní dřeně a zvýšené riziko poškození zdravé tkáně. Situaci dále komplikuje nedostatek prospektivních studií případně rozsáhlých retrospektivních sérií, které by hodnotily bezpečnost a účinnost cytotoxických látek u této skupiny pacientů. Tabulka 1 shrnuje dosavadní zkušenosti s použitím cytotoxické chemoterapie u pacientů s FA při léčbě různých typů nádorů (z nichž většinu tvoří HNSCC). Navzdory možnému zkrácení způsobenému výběrem publikovaných studií omezené údaje naznačují, že standardní dávky a režimy chemoterapie se u pacientů s FA nejeví jako proveditelné. Kromě toho je cytotoxická chemoterapie, a to jak ve standardních, tak v nízkých dávkách, spojena se závažnými a v mnoha případech smrtelnými toxickými účinky a neuspokojivými výsledky léčby.

Použití biologických přípravků u pacientů s FA představuje atraktivní alternativu k cytotoxické chemoterapii, a to vzhledem k příznivějšímu profilu nežádoucích účinků těchto přípravků. Nicméně cetuximab (jediné cílené léčivo schválené pro HNSCC) byl u pacientů s FA používán pouze ojediněle a zdá se, že je lépe snášen než cytotoxická chemoterapie (tabulka 1), avšak jeho účinnost u pacientů s FA není známa. Použití inhibitorů anti-PD-1 u pacientů s FA by mohlo představovat alternativu k cytotoxické léčbě při léčbě recidivujícího a/nebo metastatického onemocnění, avšak zkušenosti s jejich použitím u pacientů s FA jsou zatím omezené. Mezi překážky spojené s použitím této léčebné metody u pacientů s FA

patří riziko vzniku reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) u pacientů po transplantaci [53] a možná nižší účinnost ve srovnání s obecnou populací vzhledem k imunitní dysfunkci u osob s FA. Tyto obavy však ještě musí být podloženy klinickými pozorováními.

U pacientů bez FA s lokálně pokročilým onemocněním slouží systémová léčba pouze jako doplněk k základní léčbě – adekvátní chirurgické intervenci a/nebo radioterapii. U pacientů s FA se nejvyšší šance na dlouhodobé přežití bez recidivy dosahuje pomocí adekvátní chirurgické operace (a případně i radioterapie). Vzhledem k vysokému výskytu komplikací souvisejících s cytotoxickými látkami u pacientů s FA převyšují ve většině případů rizika spojená se zařazením cytotoxické chemoterapie do léčebného režimu její potenciální přínosy. Proto se použití cytotoxických látek u pacientů s FA, kteří trpí lokálně pokročilým nebo recidivujícím a/nebo metastatickým nádorem hlavy a krku, důrazně nedoporučuje. Ve vybraných případech, kdy je třeba zvážit chemoterapii a/nebo biologickou léčbu nebo imunoterapii, se doporučuje, aby byla léčba prováděna v centrech s rozsáhlými zkušenostmi s léčbou nádorů hlavy a krku a FA.

Tabulka 1. Systémová léčba HNSCC u pacientů s Fanconiho anémií.

Typ nádoru	N	Chemoterapie	Cykly	Výsledky
SCC mandlí [54]	1 ¶	Cisplatina (40 mg/m ²)	X1	Smrtelná myelotoxicita
SCC hypofaryngu [55]	1 ¶	Cisplatina (100 mg/m ²)	X1	Smrtelná myelotoxicita
SCC jícnu [56]	1 ‡	Cisplatina (33 mg/m ²) 5-FU (1000 mg/m ²)	X1	Těžký průjem a myelotoxicita Částečná odezva umožňující operaci
SCC jazyka [57]	1 ‡	Cisplatina (8 mg) 5-FU (60 mg)	X1	Závažná toxicita Žádná odezva nádoru
SCC plic [58]	1 ‡	Karboplatina (AUC 3 d1) Gemcitabin (1250 mg/m ² d1,8)	X2	Pneumonitida Částečná odezva umožňující operaci
SCC hlavy a krku [8]	3 (2 ¶ + 1 ‡)	N/A	N/A	Všichni pacienti zemřeli s onemocněním
SCC vulvy [59]	1 ¶	Cisplatina (40 mg/m ²)	X1	Smrtelná plísňová sepe
SCC úst a jazyka [60]	1 ¶	Cetuximab	X8	Neutropenie, mukozitida, cholestáza
SCC hlavy a krku [32]	1	Karboplatina a paklitaxel	X2	Pancytopenie, kolitida, hepatotoxicita

Typ nádoru	N	Chemoterapie	Cykly	Výsledky
	1¶	Cetuximab	Několik	Závažná toxicita při radioterapii, při použití samostatně dobře snášeno s odezvou nádoru
	1¶	Cetuximab	Několik	Dobře snášeno
	1	Cetuximab a nivolumab¶	Několik, X3	Cetuximab byl dobře snášen, objevila se encefalitida vyvolaná nivolumabem
	1	Cetuximab, paklitaxel (20-80 mg/m2/týden)¶, tremelimumab¶, durvalumab¶	Několik	Léčba byla dobře snášena, pacient zemřel na onemocnění
SCC hlavy a krku [10]	3¶	Cetuximab	Několik	Cytopenie u 1 pacienta
	3	Klasická chemoterapie	N/A	Závažné komplikace u 1 pacienta

Chemoterapie byla podávána jako samostatná léčba (¶) nebo souběžně s radioterapií (¶). Zkratky: AUC, plocha pod křivkou; N, počet pacientů léčených chemoterapií v každé zprávě; N/A, není k dispozici; SCC, dlaždicobuněčné karcinomy.

Rehabilitace a úprava životního stylu po léčbě rakoviny hlavy a krku

Léčba HNSCC může být vysilující. V případě potřeby by měla být zahájena rehabilitace s cílem optimalizovat funkční, psychologické a hlasové výsledky pacienta. Negativní následky chirurgického odstranění nádoru na řeč a polykání vyžadují zásah fyzioterapeutů a rehabilitačních specialistů (např. cvičení krku a ramen, logopedie a nácvik polykání atd.). Kromě toho mohou vyžadovat zásah také ochrnuté hlasivky a zúžení či ucpaní hltanu. Kosmetická rekonstrukce obličeje má zásadní význam pro psychické zotavení. Po absolvování ozařování mohou pacienti potřebovat léčbu xerostomie, zubní péči a prevenci komplikací souvisejících s fibrózou, jako je trismus. Pacientům by měla být poskytnuta dlouhodobá péče, a to zejména v oblasti stomatologické péče. Je třeba pokračovat v pravidelném sledování chrupu a zahájit preventivní opatření proti zubnímu kazu, včetně aplikace fluoridových přípravků u všech pacientů. Po chemoterapii může být u pacientů nutná kontrola funkce ledvin, sluchu a poškození periferních nervů.



Shrnutí

Pacienti s FA mají zvýšené riziko vzniku agresivního dlaždicobuněčného karcinomu hlavy a krku (HNSCC), zejména v dutině ústní. Dokud nebudou k dispozici nová léčebná a preventivní opatření, patří mezi nejdůležitější způsoby, jak snížit výskyt a nemocnost HNSCC u pacientů s FA, přísná abstinence od tabáku a alkoholu, vyhýbání se pasivnímu kouření, dodržování ústní hygieny a důkladné pravidelné prohlídky. Důležitými preventivními opatřeními jsou včasná a častá vyšetření hlavy a krku, včetně pečlivého vyšetření ústní dutiny a flexibilní laryngoskopie. Hlavním pilířem léčby pacientů s FA zůstává adekvátní chirurgická resekce, protože radioterapie a chemoterapie jsou špatně snášeny. Pokud je u pokročilých nádorů nutná radioterapie a chemoterapie, měly by být tyto metody používány s opatrností a pouze lékaři, kteří mají zkušenosti s rozpoznáváním, prevencí a léčbou souvisejících komplikací.

Fond pro výzkum Fanconiho anémie oceňuje autorské příspěvky k 5. vydání:

Bhuvanesh Singh, MD, PhD*

Joel Greenberger, MD

David Kutler, MD

William William, MD

**Předseda odborné komise*

Použitá literatura

1. Ries, L.A.G., et al., *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005*. 2008, National Cancer Institute: Bethesda, MD.
2. Blot, W.J., et al., *Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer*. *Cancer Res*, 1988. 48(11): str. 3282-7.
3. Maier, H., et al., *Chronic alcohol consumption--the key risk factor for pharyngeal cancer*. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1994. 110(2): str. 168-73.
4. Sanghvi, L.D., D.N. Rao a S. Joshi, *Epidemiology of head and neck cancers*. *Semin Surg Oncol*, 1989. 5(5): str. 305-9.
5. Hording, U., S. Dugaard a J.E. Bock, *Human papillomavirus, Epstein-Barr virus, and cervical carcinoma in Greenland*. *Int J Gynecol Cancer*, 1992. 2(6): str. 314-7.
6. Alter, B.P., *Cancer in Fanconi anemia, 1927-2001*. *Cancer*, 2003. 97(2): str. 425-40.
7. Alter, B.P., et al., *Cancer in Fanconi anemia*. *Blood*, 2003. 101(5): str. 2072.

8. Kutler, D.I., et al., *High incidence of head and neck squamous cell carcinoma in patients with Fanconi anemia*. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2003. 129(1): str. 106-12.
9. Rosenberg, P.S., M.H. Greene a B.P. Alter, *Cancer incidence in persons with Fanconi anemia*. Blood, 2003. 101(3): str. 822-6.
10. Kutler, D.I., et al., *Natural history and management of Fanconi anemia patients with head and neck cancer: A 10-year follow-up*. Laryngoscope, 2016. 126(4): str. 870-9.
11. Morris, L.G., et al., *Second primary cancers after an index head and neck cancer: subsite-specific trends in the era of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer*. J Clin Oncol, 2011. 29(6): str. 739-46.
12. Neveling, K., et al., *Genotype-phenotype correlations in Fanconi anemia*. Mutat Res, 2009. 668(1-2): str. 73-91.
13. Guardiola, P., et al., *Acute graft-versus-host disease in patients with Fanconi anemia or acquired aplastic anemia undergoing bone marrow transplantation from HLA-identical sibling donors: risk factors and influence on outcome*. Blood, 2004. 103(1): str. 73-7.
14. Rosenberg, P.S., et al., *Risk of head and neck squamous cell cancer and death in patients with Fanconi anemia who did and did not receive transplants*. Blood, 2005. 105(1): str. 67-73.
15. Mawardi, H., et al., *Oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: clinical presentation and treatment outcomes*. Bone Marrow Transplant, 2011. 46(6): str. 884-91.
16. de Araujo, M.R., et al., *High prevalence of oral human papillomavirus infection in Fanconi's anemia patients*. Oral Dis, 2011. 17(6): str. 572-6.
17. Kutler, D.I., et al., *Human papillomavirus DNA and p53 polymorphisms in squamous cell carcinomas from Fanconi anemia patients*. J Natl Cancer Inst, 2003. 95(22): str. 1718-21.
18. Alter, B.P., et al., *Squamous cell carcinomas in patients with Fanconi anemia and dyskeratosis congenita: a search for human papillomavirus*. Int J Cancer, 2013. 133(6): str. 1513-5.
19. van Zeeburg, H.J., et al., *Clinical and molecular characteristics of squamous cell carcinomas from Fanconi anemia patients*. J Natl Cancer Inst, 2008. 100(22): str. 1649-53.
20. Hoskins, E.E., et al., *Fanconi anemia deficiency stimulates HPV-associated hyperplastic growth in organotypic epithelial raft culture*. Oncogene, 2009. 28(5): str. 674-85.
21. Park, J.W., et al., *Deficiencies in the Fanconi anemia DNA damage response pathway increase sensitivity to HPV-associated head and neck cancer*. Cancer Res, 2010. 70(23): str. 9959-68.
22. Cohen, N., S. Fedewa a A.Y. Chen, *Epidemiology and demographics of the head and neck cancer population*. Oral Maxillofac Surg Clin North Am, 2018. 30(4): str. 381-95.
23. Farquhar, D.R., et al., *Poor oral health affects survival in head and neck cancer*. Oral Oncol, 2017. 73: str. 111-17.
24. Hashim, D., et al., *The role of oral hygiene in head and neck cancer: results from International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium*. Ann

Oncol, 2016. 27(8): str. 1619-25.

25. Singhvi, H.R., A. Malik, and P. Chaturvedi, *The Role of chronic mucosal trauma in oral cancer: A Review of Literature*. Indian J Med Paediatr Oncol, 2017. 38(1): str. 44-50.
26. Han, T.J., et al., *Synchronous multifocal HPV-related neoplasm involving both the genital tract and the head-and-neck area: a case report of Fanconi anemia*. Radiother Oncol, 2009. 92(1): str. 138-41.
27. van Zeeburg, H.J., et al., *Re: Human papillomavirus DNA and p53 polymorphisms in squamous cell carcinomas from Fanconi anemia patients*. J Natl Cancer Inst, 2004. 96(12): str. 968, odpověď autora 968-9.
28. D'Souza, G., et al., *Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection*. J Infect Dis, 2009. 199(9): str. 1263-9.
29. D'Souza, G., et al., *Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer*. N Engl J Med, 2007. 356(19): str. 1944-56.
30. Alter, B.P., *Fanconi's anemia, transplantation, and cancer*. Pediatr Transplant, 2005. 9 Suppl 7: str. 81-6.
31. Velleuer, E., et al., *Diagnostic accuracy of brush-biopsy based cytology for the early detection of oral cancer and precursors in Fanconi anemia*. Cancer Cytopathology, 2020: str. 1-11.
32. Beckham, T.H., et al., *Treatment modalities and outcomes of Fanconi anemia patients with head and neck squamous cell carcinoma: Series of 9 cases and review of the literature*. Head Neck, 2019. 41(5): str. 1418-26.
33. D'Cruz, A.K., et al., *Elective versus therapeutic neck dissection in node-negative oral cancer*. N Engl J Med, 2015. 373(6): str. 521-9.
34. Alkaabi, M., et al., *Double paddle free fibular flap for reconstruction of the composite facial tumour in patient with Fanconi's anaemia*. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2009. 62(11): str. e471-3.
35. Chao, J.W., et al., *Free fibular flap reconstruction of the mandible in a patient with Fanconi anemia*. Plast Reconstr Surg, 2010. 125(2): str. 61e-63e.
36. Kaplan, K.A., et al., *Sequential second free flap for head and neck reconstruction in a patient with fanconi anemia and metachronous squamous cell carcinoma*. Plast Reconstr Surg, 2011. 128(1): str. 18e-9e.
37. Shah, J., S. Patel a B. Singh, *Head and neck surgery and oncology*, 4. vyd. 2012, Edinburgh: Mosby.
38. Sessions, R. a M.S. Keis, *Head and neck cancer: a multidisciplinary approach*, 4. vyd. 2013, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers.
39. Berhane, H., et al., *Amelioration of irradiation induced oral cavity mucositis and distant bone marrow suppression in Fancd2^{-/-} (FVB/N) mice by intraoral JP4-039/F15*. Radiation Research, 2014. 182: str. 35-49.
40. Shinde, A., et al., *Intraoral mitochondrial-targeted GS-nitroxide, JP4-039, radioprotects normal tissue in tumor-bearing radiosensitive Fancd2^{-/-} (C57BL/6) mice*. Radiat Res, 2016. 185(2): str. 134-50.
41. Willis, J., et al., *Amelioration of head and neck irradiation-induced mucositis and distant marrow suppression in Fanca^{-/-} and Fancg^{-/-} mice by intraoral administration of GS-nitroxide (JP4-039)*. Radiation Research, 2018. 189: str. 560-78.
42. Bernier, J., et al., *Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head and neck cancer*. N Engl J Med, 2004. 350(19): str. 1945-52.

43. Cooper, J.S., et al., *Postoperative concurrent radiotherapy and chemotherapy for high-risk squamous-cell carcinoma of the head and neck*. *N Engl J Med*, 2004. 350(19): str. 1937-44.
44. Bernier, J., et al., *Defining risk levels in locally advanced head and neck cancers: a comparative analysis of concurrent postoperative radiation plus chemotherapy trials of the EORTC (#22931) and RTOG (# 9501)*. *Head Neck*, 2005. 27(10): str. 843-50.
45. Denis, F., et al., *Final results of the 94-01 French Head and Neck Oncology and Radiotherapy Group randomized trial comparing radiotherapy alone with concomitant radiochemotherapy in advanced-stage oropharynx carcinoma*. *J Clin Oncol*, 2004. 22(1): str. 69-76.
46. Pignon, J.P., et al., *Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): an update on 93 randomised trials and 17,346 patients*. *Radiother Oncol*, 2009. 92(1): str. 4-14.
47. Bonner, J.A., et al., *Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck*. *N Engl J Med*, 2006. 354(6): str. 567-78.
48. Gillison, M.L., et al., *Radiotherapy plus cetuximab or cisplatin in human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer (NRG Oncology RTOG 1016): a randomised, multicentre, non-inferiority trial*. *Lancet*, 2019. 393(10166): str. 40-50.
49. Mehanna, H., et al., *Radiotherapy plus cisplatin or cetuximab in low-risk human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer (De-ESCALaTE HPV): an open-label randomised controlled phase 3 trial*. *Lancet*, 2019. 393(10166): str. 51-60.
50. Vermorken, J.B., et al., *Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer*. *N Engl J Med*, 2008. 359(11): str. 1116-27.
51. Cohen, E.E.W., et al., *Pembrolizumab versus methotrexate, docetaxel, or cetuximab for recurrent or metastatic head-and-neck squamous cell carcinoma (KEYNOTE-040): a randomised, open-label, phase 3 study*. *Lancet*, 2019. 393(10167): str. 156-167.
52. Ferris, R.L., et al., *Nivolumab for recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck*. *N Engl J Med*, 2016. 375(19): str. 1856-67.
53. Ijaz, A., et al., *Significant risk of graft-versus-host disease with exposure to checkpoint inhibitors before and after allogeneic transplantation*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2019. 25(1): str. 94-9.
54. Spanier, G., et al., *Fatal course of tonsillar squamous cell carcinoma associated with Fanconi anaemia: a mini review*. *J Craniomaxillofac Surg*, 2012. 40(6): str. 510-5.
55. Tan, I.B., et al., *Fanconi's anemia in adulthood: chemoradiation-induced bone marrow failure and a novel FANCA mutation identified by targeted deep sequencing*. *J Clin Oncol*, 2011. 29(20): str. e591-4.
56. Hosoya, Y., et al., *Successful treatment of esophageal squamous cell carcinoma in a patient with Fanconi anemia*. *Jpn J Clin Oncol*, 2010. 40(8): str. 805-10.
57. Masserot, C., et al., *Head and neck squamous cell carcinoma in 13 patients with Fanconi anemia after hematopoietic stem cell transplantation*. *Cancer*, 2008. 113(12): str. 3315-22.
58. Dudek, A.Z., et al., *Neoadjuvant chemotherapy with reduced-dose carboplatin and gemcitabine for non-small cell lung cancer in a patient with Fanconi anemia*. *J Thorac Oncol*, 2008. 3(4): str. 447-50.
59. Carvalho, J.P., et al., *Squamous cell vulvar carcinoma associated with Fanconi's anemia: a*

case report. *Int J Gynecol Cancer*, 2002. 12(2): str. 220-2.

60. Wong, W.M., et al., *Squamous cell carcinoma of the oral tongue in a patient with Fanconi anemia treated with radiotherapy and concurrent cetuximab: a case report and review of the literature*. *Head Neck*, 2013. 35(10): str. E292-8.