

Doporučení rozšíření indikačních kritérií ke genetickému testování mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* u hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií

Recommended Extension of Indication Criteria for Genetic Testing of *BRCA1* and *BRCA2* Mutations in Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome

Foretová L.¹, Macháčková E.¹, Palácová M.², Navrátilová M.¹, Svoboda M.^{1,2}, Petráková K.²

¹ Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

² Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Genetické testování pro dědičný syndrom nádorů prsu a ovarií se provádí po konzultaci s lékařským genetikem a po zvážení osobní i rodinné anamnézy, dle určitých konsenzuálních kritérií, která odrážejí současný stav znalostí. Poslední doporučení schválená výbory České onkologické společnosti a Společnosti lékařské genetiky ČLS JEP byla publikována v supplementu Klinické onkologie 2009, ročník 22. Update těchto kritérií je nutný vzhledem k novým skutečnostem týkajícím se především nádorů vaječníků, kdy je nosičství mutace v genech *BRCA1/2* také indikací k léčbě PARP inhibitory. Dalším faktorem je i přítomnost některých jiných malignit v rodině, jako jsou opakovaná onemocnění nádory prostaty nebo slinivky. Cílem je zvýšit záchyt mutací v rodinách, rozšířit prevenci a dále zajistit důležité údaje pro cílenou nádorovou léčbu.

Klíčová slova

hereditární syndrom nádorů prsu a ovarií – genetické testování – genetické poradenství

Summary

Genetic testing for hereditary breast and ovarian cancer syndrome is indicated by a genetic counselor on the basis of personal and family history evaluation, with regards to consensual criteria, reflecting the current knowledge. The latest recommendation accepted by Czech Oncology Society and Society of Medical Genetics was published in the supplement 22 to the Journal of Clinical Oncology in 2009. Since the availability of PARP inhibitors for treatment of ovarian cancer in *BRCA1/2* mutation carriers, an update of these guidelines is urgently needed. Another reason is a higher incidence of other malignancies in high-risk families, such as prostate or pancreatic cancer. The goal is to refine the detection of mutations in selected families, to improve preventive care and collect data necessary for targeted cancer treatment.

Key words

hereditary breast and ovarian cancer syndrome – genetic testing – genetic counseling

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.

Oddělení epidemiologie

a genetiky nádorů

Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: foretova@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 25. 8. 2015

Přijato/Accepted: 20. 10. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016S9>

Úvod

V roce 1994 a 1995 byly objeveny tumor supresorové geny *BRCA1* (chromozom 17q21, 24 exonů) a *BRCA2* (chromozom 13q12-13, 27 exonů), které mnohonásobně zvyšují celoživotní rizika onemocnění nádory prsu a vaječnicků [1,2]. Předpokládá se, že zárodečné mutace v těchto genech jsou schopné objasnit asi 20 % ze všech familiárních forem nádorů prsu, mutace v jiných vysoce rizikových genech pro specifické nádorové syndromy *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1* asi 1 %. Dalšími geny, které mohou vysvětlit určitou část familiárních případů, jsou geny středně zvýšeného rizika onemocnění. Jedná se např. o geny *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1*, *PALB2* i *RAD51C*, nicméně se dá předpokládat, že s rozvojem nové generace sekvenování (next-generation sequencing – NGS) a testování panelu genů nebo celoexomového testování budou nalézány další možné predispoziční geny s různě vyjádřeným rizikem onemocnění pro nádory prsu, vaječnicků, event. i jiná nádorová onemocnění. U většiny genů mírného a středního rizika nejsou dosud vytvořeny guidelines pro klinické sledování nosiček a nosičů [3–7].

Nádory prsu a vaječnicků mohou jako většina nádorových onemocnění vznikat na základě polygenní etiologie. Proto vyloučit určité zvýšené riziko negativně testovaným zdravým příbuzným nelze, obzvláště u středně rizikových genů.

Předpokládaná populační frekvence mutací v genech *BRCA1/2* se uvádí asi 1/800–1/1 000 pro každý gen [8]. Výskyt mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* v ČR lze na základě výskytu populačně specifických variant u neselektované populace žen s karcinomem prsu odhadnout na 2,8 % [9]. V některých zemích jsou uváděny populačně specifické mutace, nicméně v ČR se kromě častějších mutací vyskytují naprosto individuální mutace v průběhu kódujících sekvencí obou genů a genetické testování nelze zjednodušit na vyšetření několika izolovaných mutací. Každé lékařem indikované testování genů *BRCA1/2* musí zahrnovat kompletní vyšetření všech exonů a exon-intronových spojení a vyšetření velkých přestaveb obou genů (velké delece nebo inserce).

I přes tyto podrobné metody testování ani při použití NGS nelze považovat genetické testování za 100% a je možné, že některé typy mutací není možné zachytit. Senzitivita testování by se mohla pohybovat v dnešní době kolem 95–99 %. U všech laboratoří poskytujících testování *BRCA1/2* genů pro klinické účely je nutné, aby měly pravidelně sledovanou svou kvalitu testování pomocí systému mezinárodních kontrol kvality (EMQN aj.).

Základní charakteristiky hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií

Celoživotní rizika onemocnění pro nosičky mutace jsou uváděna různě v různých studiích a v různých populacích. Ve studii ve Velké Británii [10] je uváděno celoživotní riziko nádorů prsu do 80 let u nosiček *BRCA1* mutace do 79,5 % a nosiček *BRCA2* mutace do 88 %, riziko ovariálního karcinomu je uváděno 65 % pro *BRCA1* nosičky a 37 % pro nosičky *BRCA2*. Obecně jsou uváděna rizika onemocnění nádorem prsu do 75 let pro oba geny 85 %, rizika druhostranného karcinomu prsu 40–60 %. Kumulativní rizika pro nádory vaječnicků jsou u nosiček *BRCA1* mutace 39–65 %, u nosiček *BRCA2* 11–37 % [11–16]. Rizika onemocnění jsou variabilní i v rámci jedné rodiny.

Geny *BRCA1* a *BRCA2* jsou tumor supresorové geny, které kódují jaderné fosfoproteiny, které se jako součást multiproteinových komplexů podílejí na zprostředkování oprav dvouřetězcových zlomů DNA, především cestou homologní rekombinace, a taktéž na regulaci buněčného cyklu a transkripce [17,18].

Nejčastější patogenní mutací v těchto genech jsou krátké inserce a delece způsobující posun čtecího rámce (frameshift) a předčasné ukončení translace s vytvořením zkráceného, nefunkčního proteinu. Missense mutace tvoří jen malou část ze všech kauzálních mutací a jejich klasifikace je v řadě případů problematická [19,20]. Pokud nejsou dostupné funkční testy, jsou často uváděny jako varianty s neznámým klinickým účinkem. Na základě multifaktoriálního pravděpodobnostního modelu lze stanovit pravděpodobnostní poměr patogenicity, který bere v úvahu

výsledky segregačních analýz, zda byla sledovaná varianta zachycena v pozici „trans“ s jinou patogenní mutací nebo zda byla zachycena také v homozygotním stavu, zohledňuje osobní a rodinnou anamnézu a patologický profil nádoru [21,22]. Další možnostmi jsou „in silico“ analýzy založené na míře evoluční konzervativnosti sekvence jako např. Align-GVGD (<http://agvgd.iarc.fr/>); PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), SIFT (<http://sift.bii.a-star.edu.sg/>), které mohou pomoci identifikovat potenciálně významné změny [22]. S ohledem na výše uvedené možnosti byla vytvořena pětistupňová IARC klasifikace (viz dále) významnosti missense variant [22,23].

Genetické testování zárodečných *BRCA1/2* mutací se provádí dle konsenzuálních kritérií, po genetickém poradenství (indikuje lékařský genetik dle osobní a rodinné anamnézy) a na základě písemného souhlasu testované osoby. Výsledky jsou uvolňovány lékařským genetikem při osobní konzultaci.

V současné době s rozvojem personalizované léčby vznikl zvýšený požadavek na testování genů *BRCA1/2* pro účely nasazení nových léčebných modalit, jak u nádorů prsu, tak u nádorů ovarií [24–27]. Inhibitory PARP, poly(ADP-riboza)polymerázy reprezentují novou léčebnou modalitu pro pacientky s germinální nebo somatickou *BRCA1/2* mutací. V tomto případě rozhodují o indikaci k testování onkologové a onkogynekologové, nicméně výsledky genetického vyšetření dědičných mutací, které vždy předchází případnému vyšetření somatických mutací v nádorové tkáni, musí být pacientce referovány lékařským genetikem pro účely genetického poradenství v rodině. Stále je klinicky nejdůležitějším a nejefektivnějším důvodem testování *BRCA1/2* možnost preventivních zásahů u zdravých nosiček a včasná minimalizace rizika onemocnění i pomocí preventivních operací.

Indikační kritéria k testování zárodečných mutací v genech *BRCA1/2*

V roce 2009 pracovní komise složená z lékařských genetiků, onkologů i gynekologů publikovala po schválení od-

bornými společnostmi základní kritéria k rozhodování o testování germinálních mutací v genech *BRCA1/2* u pacientek nebo v rodinách s nádory prsu/ovaria [28]. Všeobecně se doporučuje testování v takových případech, kdy primární pravděpodobnost nalezení mutace převyšuje 10 %. U neselektovaných karcinomů prsu se uvádí asi 3–7% zachytnost mutací [29,30], u neselektovaných nádorů ovarií se však frekvence mutací uvádí v novějších publikacích nad 10 % [30,31]. Je nutné, aby se tato předpokládaná významná četnost dědičných karcinomů ovarií odrazila i v úpravě indikací, neboť profylaktické operace pomocí adnexektomií jsou nejúčinnější prevencí většinou neléčitelného onemocnění u nosiček mutací. Podle současných publikovaných kritérií je detekovaná patogenní mutace u asi 23 % testovaných probandek s nádorem prsu nebo ovaria [19]. Je tedy nutné kritéria upravit a umožnit četnější záchyt dědičně disponovaných osob.

S rozvojem NGS je postupně převládána diagnostika individuálních genů na komplex několika desítek i stovek genů. Tento přechod znamená možnosti záchytu predisponujících mutací i v jiných genech a rozšiřuje spektrum možných pozitivních výsledků [5,32]. Biologická a klinická interpretace těchto výsledků je složitá. Může se jednat o nálezy diskordantní, tj. nalezená mutace v genu neodpovídá dosavadní osobní a rodinné anamnéze, nebo se jedná o nálezy mutací v málo penetrantních genech, je zachycena polygenní etiologie nebo se jedná o varianty neznámého klinického účinku v různých genech. Nově navrhaná rozšířená kritéria jsou uvedena v tab. 1.

Negativní prediktivní test neznámá populační riziko nádoru prsu, ale dle studií mírně zvýšené riziko karcinomu prsu vzhledem k předpokládanému genetickému pozadí [34]. Je nutné navrhnout roční preventivní kontroly prsou včetně ultrazvuku nebo mamografie.

Poznámky k tab. 1

- Přímí příbuzní prvního stupně, přes otce druhého.
- Bilaterální karcinom prsu nebo ipsilaterální jednoznačně víceložiskový syn-

Tab. 1. Indikační kritéria modifikovaná (dle NCCN, National Comprehensive Cancer Guidelines, 2015 [33], schválená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP).

Sporadické formy

- epitelový karcinom ovaria/tuby/primární peritoneální karcinom v jakémkoliv věku
- triple negativní karcinom (receptory ER, PR a HER2 negativní) prsu do 60 let (medulární karcinomy prsu se téměř vždy shodují s TNBC)
- unilaterální karcinom prsu do 45 let (do 50 let pokud není známá vůbec rodinná anamnéza)
- dva samostatné primární karcinomy prsu, první do 50 let, nebo oba do 60 let (bilaterální nebo ipsilaterální/synchronní nebo metachronní)
- duplicita karcinomu prsu a slinivky v jakémkoliv věku
- karcinom prsu u muže v jakémkoliv věku

Familiární formy (karcinom ovaria, tuby nebo primární peritoneální v rodinné anamnéze je vždy indikací k testování)

3 příbuzní

- alespoň 3 přímí příbuzní (včetně probandky) s karcinomem prsu v jakémkoliv věku

2 příbuzní

- 2 přímé příbuzné (včetně probandky) s karcinomem prsu, alespoň jedna diagnostikována ve věku pod 50 let, nebo obě do 60 let (empirické riziko karcinomu prsu je pro přímé příbuzné nad 20 %, tj. vysoké, a doporučujeme MRI prsou)
- probandka s karcinomem prsu do 50 let s přímým příbuzným s nádorem spojeným s HBOC (především karcinom slinivky, prostaty)

prediktivní testování známé rodinné mutace u příbuzných od 18 let věku (ve zvláštních případech individuálně)

TNBC – triple negativní karcinom prsu, HBOC – hereditární karcinom prsu a ovaria

chronní nebo asynchronní je brán jako dva nádory.

- *BRCA1/2* pozitivní nádory ovarií nejsou většinou mucinózní.
- Karcinomy ovarií/tuby/primární peritoneální jsou často spojeny i s Lynchovým syndromem, non-epiteliální s Peutz-Jeghersovým syndromem, event. jinými syndromy.
- V rodinách, kde již nežije proband s nádorovým onemocněním, je možné testování příbuzných v riziku dle uvedených kritérií.
- V rodinách s nádory prsu je vysoká frekvence fenokopí (asi 12 %), proto pokud je negativně testovaná probandka, je vhodné zvážit testování i další pacientky s vysokou pravděpodobností nosičství *BRCA1/2* mutace [34,35].
- Pacienti po alogenní transplantaci kostní dřeně nemohou mít molekulární genetické testování z krve, je vhodné

z jiné dostupné tkáně nebo z bukalní sliznice (i zde možná kontaminace).

Výsledky genetického testování

V genetické zprávě jsou pacientovi předávány výsledky typu:

- Je zjištěna **patogenní mutace** ve vysoce penetrantním genu.
- Je zjištěna **varianta s neznámým klinickým účinkem** ve vysoce penetrantním genu, klasifikace dle IARC třída 3–5 [22,23] (varianty třídy 1 a 2 pacientům nejsou referovány):
 - u klasifikace třídy 3 – nejasného významu (nehodnoceno) – prediktivní testování je sporné a není indikováno;
 - u klasifikace třídy 4 – pravděpodobně patogenní (na základě predikce a multifaktoriálních studií) – je prediktivní testování indikováno, u negativně testovaných vhodná prevalence dle rizika rodinné anamnézy;

- u klasifikace třídy 5 – definitivně patogenní mutace (nezvratné potvrzení na základě multifaktoriálních studií, případně potvrzení funkčním testem).
- Patogenní mutace ve středně rizikových genech (např. *CHEK2* aj.) – většinou však neexistují zcela jasné guidelines pro preventivní péči [36]. U pozitivního nálezu tam, kde empirická rizika rodinné anamnézy převyšují publikovaná rizika středně rizikového genu, se doporučuje návrh prevence dle rodinné anamnézy, stejně tak i u negativního prediktivního testu u zdravých příbuzných (nelze vyloučit možné jiné geny).

Testování pro účely onkologické léčby

V současné době je onkolog indikován urgentní testování kvůli léčbě:

A. U pacientek splňujících genetická indikační kritéria k testování

V situaci, kdy jedinou indikací k adjuvantní radioterapii je parciální výkon a mastektomií indikovanou z důvodu mutace genů *BRCA1/2* by pacientka mohla radioterapii předejít.

Při rozhodování o typu operace – parciální mastektomie (pokud je technicky možná), nebo bilaterální mastektomie (v případě přítomnosti mutace genů *BRCA1/2*).

Jaký typ chemoterapie nasadit – otázka zařazení platinového derivátu.

B. Indikuje onkolog/gynekolog

Při zařazení léčby PARP inhibitory do léčby ovariálního karcinomu podle daných kritérií (high-grade serózní, po 2. linii chemoterapie a nejméně šestměsíční remisi, indikuje onkolog/gynekolog) CAVE všechny pacientky s karcinomy ovarií jsou indikovány z genetického hlediska k testování *BRCA1/2* dle nových kritérií, proto je vhodné je odesílat k testování co nejdříve po diagnóze.

Doporučení

- Urgenci testování kvůli léčbě určuje onkolog, gynekolog, chirurg, plastický chirurg aj.
- Odesílá pacientku **urgentně na genetickou poradnu** (vynechání pouze v odůvodněných případech).

- **Na žádosti o urgentní poradnu a testování je vhodné uvést důvod a termín potřebných výsledků** (dostupnost dle laboratoře, většinou za 1–3 měsíce).
- **Laboratorní výsledek** musí být předán genetikem lékaři ihned po ukončení testování.
- Genetická konzultace s osobním předáním výsledků a lékařské zprávy pacientce (nebo oprávněnému příbuznému) proběhne později a je vždy nutná.

Závěr

Testování zárodečných mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* je stále více důležitou součástí preventivní péče o rizikové ženy i součástí onkologické léčby. Způsob laboratorního vyšetření by měl odpovídat současným nejlepším možnostem, tj. s využitím vysoce senzitivních screeningových metod, ale i přímým Sangerovým sekvenováním, NGS (masivním paralelním sekvenováním) s doplněním analýz ke zjištění velkých přestaveb genů [37]. Senzitivita těchto metod je pravděpodobně srovnatelná, nicméně je důležitá **pravidelná mezinárodní kontrola kvality všech laboratoří testujících pro klinické účely**. Bez ní není schopnost laboratoře zachytit maximum mutací ověřitelná. Tyto výsledky by měly být zveřejňovány na webových stránkách pracoviště.

Interpretace výsledků je důležitá jak z biologického hlediska, tak z hlediska klinického v kontextu celé osobní a rodinné anamnézy. Je za ni zodpovědný molekulární genetik a lékařský genetik. Je nutné klasifikovat, zda se jedná o patogenní mutaci nebo variantu s neznámým klinickým účinkem, event. se snažit o experimentální ověření např. u suspektních sestřihových mutací analýzou mRNA.

Za indikace k testování genů *BRCA1/2*, event. jiných rizikových genů je zodpovědný lékařský genetik, po domluvě s onkologem, event. jiným lékařem indikujícím genetickou konzultaci. Pro účely nasazení **PARP inhibitorů** je indikujícím lékařem onkolog/onkogynekolog, který pacienta léčí. Vždy je však nutné postupovat standardním způsobem – **žádanka s urgentním požadav-**

kem a zdůvodněním včetně časového požadavku – genetické poradenství v co nejkratším termínu – testování v co nejkratším termínu – předání laboratorního výsledku onkologovi/onkogynekologovi do nemocničního systému – pozvání pacientky do genetické poradny s předáním výsledků a doporučením další preventivní péče a prediktivního testování v rodině. Pokud nebude toto prováděno přes genetikou ambulanci, bude většina důležitých preventivních a prediktivních informací pro pacientku i rodinu ztracena.

Nová kritéria ke genetickému testování *BRCA1/2* genů pro hereditární syndrom karcinomu prsu a ovarií rozšiřují testování pro všechny ženy s **karcinomem ovarií bez věkové limitace**, bez limitace histologické, přestože mucinózní karcinom ovarií je u nosiček mutací *BRCA1/2* vzácný. Dále rozšiřují testování pro **pacientky se sporadickým triple negativním karcinomem prsu do 60 let**, pro rodiny s **kombinací nádorů prsu/vaječníků a prostaty nebo pankreatu**.

Každá rodina je jedinečná a je vždy individuálně zvažováno lékařským genetikem, zda existují další možné rizikové faktory, které zvyšují pravděpodobnost hereditární etiologie.

Literatura

1. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* 1994; 266(5182): 66–71.
2. Wooster R, Bignell G, Lancaster J et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*. *Nature* 1995; 378(6559): 789–792.
3. Apostolou P, Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed Res Int* 2013; 2013: ID747318. doi: 10.1155/2013/747318.
4. Lalloo F, Evans DG. Familial breast cancer. *Clin Genet* 2012; 82(2): 105–114. doi: 10.1111/j.1399-0004.2012.01859.x.
5. Gracia-Aznaves FJ, Fernandez V, Pita G et al. Whole exome sequencing suggests much of non-*BRCA1/BRCA2* familial breast cancer is due to moderate and low penetrance susceptibility alleles. *PLoS One* 2013; 8(2): e55681. doi: 10.1371/journal.pone.0055681.
6. Kleibl Z, Novotny J, Bedzickova D et al. The *CHEK2* c.1100delC germline mutation rarely contributes to breast cancer development in the Czech Republic. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 90(2): 165–167.
7. Bogdanova N, Helvit S, Dörk T. Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle. *Hered Clin Pract* 2013; 11(1): 12. doi: 10.1186/1897-4287-11-12.
8. Balmaña J, Diez O, Rubio IT et al. *BRCA* in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2011; 22 (Suppl 6): vi31–vi34. doi: 10.1093/annonc/mdr373.
9. Matějů M, Stribrna J, Zikan M et al. Population-based study of *BRCA1/2* mutations: family history based criteria

- identify minority of mutation carriers. *Neoplasma* 2010; 57(3): 280–285.
10. Evans DG, Shenton A, Woodward E et al. Penetrance estimates for BRCA1 and BRCA2 based on genetic testing in a Clinical cancer genetics service setting: risks of breast/ovarian cancer quoted should reflect the cancer burden in the family. *BMC Cancer* 2008; 8: 155. doi: 10.1186/1471-2407-8-155.
 11. Ford D, Easton DF, Stratton M et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *Am J Hum Genet* 1998; 62(3): 676–689.
 12. Thompson D, Easton DF. Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer incidence in BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(18): 1358–1365.
 13. Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA et al. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(18): 1365–1372.
 14. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *J Hum Genet* 2003; 72(5): 1117–1130.
 15. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 Penetrance. *J Clin Oncol* 2007; 25(11): 1329–1333.
 16. Finch A, Evans G, Narod SA. BRCA carriers, prophylactic salpingo-oophorectomy and menopause: clinical management considerations and recommendations. *Womens Health* 2012; 8(5): 543–555. doi: 10.2217/whe.12.41.
 17. Liu Y, West SC. Distinct functions of BRCA1 and BRCA2 in double-strand break repair. *Breast Cancer Res* 2002; 4(1): 9–13.
 18. Yoshida K, Miki Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci* 2004; 95(11): 866–871.
 19. Machackova E, Foretova L, Lukesova M et al. Spectrum and characterisation of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations in high-risk Czech patients with breast and/or ovarian cancer. *BMC Cancer* 2008; 8: 140. doi: 10.1186/1471-2407-8-140.
 20. Claes K, Poppe B, Machackova E et al. Differentiating pathogenic mutations from polymorphic alterations in the splice sites of BRCA1 and BRCA2. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 37(3): 314–320.
 21. Easton DF, Deffenbaugh AM, Pruss D et al. A systematic genetic assessment of 1,433 sequence variants of unknown clinical significance in the BRCA1 and BRCA2 breast cancer susceptibility genes. *Am J Hum Genet* 2007; 81(5): 873–883.
 22. Lindor NM, Guidugli L, Wang X et al. A review of a multifactorial probability based model for classification of BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance (VUS). *Hum Mutat* 2012; 33(1): 8–21. doi: 10.1002/humu.21627.
 23. Plon SE, Eccles DM, Easton D et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat* 2008; 29(11): 1282–1291. doi: 10.1002/humu.20880.
 24. Ledermann J, Harter P, Gourley C et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(8): 852–861. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70228-1.
 25. Ledermann J, Harter P, Gourley C et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Eng J Med* 2012; 366(15): 1382–1392. doi: 10.1056/NEJMoa1105535.
 26. Reinbolt RE, Hays JL. The role of PARP inhibitors in the treatment of gynecologic malignancies. *Front Oncol* 2013; 3: 237. doi: 10.3389/fonc.2013.00237.
 27. Telli ML, Ford J. PARP Inhibitors in breast cancer. *Clin Adv Hematol Oncol* 2010; 8(9): 629–635.
 28. Plevová P, Novotný J, Petráková K et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S8–S11.
 29. Newman B, Mu H, Butler LM et al. Frequency of breast cancer attributable to BRCA1 in a population based series of American women. *JAMA* 1998; 279(12): 915–921.
 30. Minion LE, Dolinsky JS, Chase DM et al. Hereditary predisposition to ovarian cancer, looking beyond BRCA1/BRCA2. *Gynecologic Oncology* 2015; 137(1): 86–92. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.01.537.
 31. Song H, Cicek MS, Ficka E et al. The contribution of deleterious germline mutations in BRCA1, BRCA2 and the mismatch repair genes to ovarian cancer in the population. *Hum Mol Genet* 2014; 23(17): 4703–4709. doi: 10.1093/hmg/ddu172.
 32. Walsh T, Casadei S, Lee MK et al. Mutation in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(44): 18032–18037. doi: 10.1073/pnas.1115052108.
 33. NCCN Guidelines Version 2.2015 [online]. Hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome. National Comprehensive Cancer Network. Available from: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
 34. Smith A, Moran A, Boyd MC et al. Phenocopies in BRCA1 and BRCA2 families: evidence for modifier genes and implications for screening. *J Med Genet* 2007; 44(1): 10–15.
 35. Fischer C, Engel C, Sutter C et al. BRCA1/2 testing: uptake, phenocopies and strategies to improve detection rates in initially negative families. *Clin Genet* 2012; 82(5): 478–483. doi: 10.1111/j.1399-0004.2011.01788.x.
 36. Pohlreich P, Kleibl Z, Kleiblová P. Klinický význam analýz genů středního rizika pro hodnocení vzniku karcinomu prsu a dalších nádorů v České republice. *Klin onkol* 2012; 25 (Suppl): S59–S66. doi: 10.14735/amko2012 559.
 37. Vaskickova P, Machackova E, Lukesova M et al. High occurrence of BRCA1 intragenic rearrangements in hereditary breast and ovarian cancer syndrome in the Czech Republic. *BMC Med Genet* 2007; 8: 32.