

## Funkční analýza VUS variant genu CHEK2

Zdeněk Kleibl<sup>1</sup>, Lenka Stolařová<sup>2</sup>, Petra Kleiblová<sup>1</sup>, Libor Macůrek<sup>2</sup>, CZEKANCA<sup>3</sup>, ENIGMA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoř onkogenetiky ÚLBLD 1.LF UK; <sup>2</sup>Laboratoř biologie nádorové buňky ÚMG AVČR; <sup>3</sup>konorcium

**Úvod:** Gen CHEK2, kódující checkpoint kinázu 2 (CHK2), je třetím nejčastěji mutovaným predispozičním genem pro karcinom prsu v ČR. Nosičky zárodečných variant způsobujících vznik aberantně zkrácené formy CHK2 tvoří 2.0% pacientek s karcinomem prsu indikovaných ke genetickému testování (99/4832 vyšetřených v CZEKANCA konsorciu). Mezinárodní studie ukazují, že jejich nosičství je spojeno se středním rizikem (OR 2.5-3.0) vzniku karcinomu prsu. Nosičky vzácných missense variant (mimo p.I157T) představují další 2% testovaných pacientek s karcinomem prsu v naší populaci (95/4832). Obdobnou frekvenci těchto VUS můžeme najít i v jiných evropských populacích.

**Cíle:** Cílem práce bylo 1) analyzovat katalytickou aktivitu CHEK2 missense VUS pomocí funkčního testu v lidských diploidních buňkách RPE1, 2) stratifikovat analyzované varianty jako funkčně defektní, intermediární a nepoškozené (WT-like), a 3) určit rizika vzniku karcinomu prsu pro nosičky germinálních mutací v ČR a národních kohortách ENIGMA konsorcia.

**Metodika:** Pro analýzu CHEK2 VUS variant jsme využili námi vyvinutého in vitro systému linie RPE1 s delecí endogenní formy CHEK2 genu. V modifikovaných buňkách byly exprimovány jednotlivé VUS CHEK2 a jejich katalytická aktivita určena na základě schopnosti a) fosforylace proteinu KAP1 a b) autofosforylace CHK2. Katalytická aktivita obou testů byla stanovena imunohistochemicky pomocí vysokokapacitní robotické ScanR mikroskopie.

**Výsledky:** U pacientek z ČR (CZEKANCA) a zahraničí (ENIGMA) jsme identifikovali 461 CHEK2 VUS. Z nich jsme pomocí in vitro analýzy úspěšně vyšetřili 432 variant. 341 variant (78.9%) bylo hodnoceno konsensuálně oběma testy: 227 jako WT-like, 12 jako intermediární a 102 jako funkčně-defektní. Stratifikaci variant jsme použili pro vyjádření rizika vzniku ca prsu u nosiček VUS v určených funkčních kategoriích v souboru 65 998 pacientek s karcinomem prsu a 71 387 kontrol (z 10 case-control datasetů z různých národních populací ENIGMA konsorcia). Výpočty ukázaly, že zatímco nosičství dědičných WT-like a intermediárních variant CHEK2 je spojeno s nízkým stupněm rizika (OR 1.16 a 1.47), nosičky funkčně defektních missense variant jsou ohroženy středním rizikem vzniku ca prsu (OR 2.87, 95% CI 2.35-3.51).

**Závěr:** Výsledky analýzy umožňují zlepšení klinického hodnocení VUS CHEK2 genu u pacientek s karcinomem prsu. Díky nízkému riziku vzniku dědičné formy karcinomu prsu, nepodmiňuje samotná přítomnost WT-like a intermediárních, heterozygotních, missense variant CHEK2 u jejich nosiček zařazení pacientek do specifických preventivních screeningových programů pro karcinom prsu. Naopak, přítomnost funkčně defektních missense variant umožňuje uvažovat o jejich nosičkách v podobném smyslu jako o nosičkách variant zkracujících CHK2 kinázu.

*Podpořeno granty AZV MZČR NV19-03-00279, NU20-03-00285 a CHEK2gether ENIGMA project.*