

## Klasická a molekulární cytogenetika v klinické praxi

Michalová K., Zemanová Z.

Centrum nádorové cytogenetiky, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK, Praha

### SOUHRN

Cytogenetika se zabývá studiem struktury, funkce a evoluce chromosomů a také chováním chromosomů v průběhu dělení zárodečných i somatických buněk. Klinická cytogenetika sleduje především změny a nepravidelnosti těchto procesů, které mohou vést ke strukturálním a početním odchylkám chromosomů v buněčných jádrech. Chromosomové odchylky mohou být vrozené, tj. konstituční, které jsou obvykle přítomny ve všech buňkách těla. Dále mohou být odchylky chromosomů získané, tj. jen v některých buňkách, jako tomu je ve zhoubných nádorech.

Cytogenetické vyšetření slouží především ke stanovení karyotypu nemocných s vrozenými vývojovými vadami, v prenatální diagnostice a při asistované reprodukci k určení chromosomového vybavení plodů. Dále jsou v systému klinické genetiky a při onkologických klinikách cytogenetické laboratoře, které vyšetřují změny chromosomů u hematologických onemocnění, případně u solidních nádorů. Tato vyšetření jsou nezbytná pro zpřesnění diagnózy a určení prognózy některých nádorových onemocnění. Uvádíme přehled klasických i molekulárních metod používaných při cytogenetických vyšetřeních, frekvenci početních a strukturálních odchylek chromosomů v populaci a nejčastější typy translokací u získaných změn v nádorových buňkách.

**Klíčová slova:** lidská a lékařská cytogenetika, chromosomy, fluorescenční *in situ* hybridizace, komparativní genomová hybridizace.

### SUMMARY

**Michalová K., Zemanová Z.: Classical and Molecular Cytogenetics in Clinical Medicine**

Cytogenetics is science about structure, function and chromosome evolution. Cytogenetics is also involved in the study of behavior of chromosomes during division of somatic and germ cells. Clinical cytogenetics is following structural and numerical chromosomal changes which can be either inborn i.e. constitutional or acquired. Acquired chromosomal changes are present in malignant tumors.

Cytogenetic examination is recommended in patients with birth defects, in prenatal diagnostics, in cases of assisted reproduction to determine chromosomal complement of foetus etc. In oncocytogenetic laboratories specific and non-specific chromosomal rearrangements are studied and their determination is improving diagnostic workup and precise diagnosis and prognosis of patients with different malignancies. We are presenting the overview of classical and molecular cytogenetic methods, frequency of numerical and structural chromosomal changes in population and the most frequent and specific acquired aberrations of malignant tumors.

**Key words:** human and medical cytogenetics, chromosomes, fluorescence *in situ* hybridization, comparative genomic hybridization.

## Úvod

Savčí chromosomy mají dvě základní biologické funkce: 1. přenos dědičného materiálu během vývoje jednotlivce; 2. přenos dědičného materiálu mezi následujícími generacemi.

Cytogenetika se zabývá studiem struktury, funkce a evoluce chromosomů. Zabývá se také chováním chromosomů v průběhu dělení zárodečných i somatických buněk. Lidská a klinická cytogenetika sleduje především změny a nepravidelnosti těchto procesů, které mohou vést ke strukturálním a početním odchylkám chromosomů v buněčných jádrech. Důsledkem těchto změn dochází ke vzniku mentální retardace, mnohočetných vrozených vývojových vad, infertility a spontánních abortů v lidské populaci. Podobné strukturální a početní změny chromosomů můžeme identifikovat také při vzniku maligních nádorů a předpokládáme, že jde o jednu ze základních událostí karcinogeneze.

V České republice jsou cytogenetické laboratoře součástí oddělení lékařské genetiky, která jsou ve všech velkých městech a zabývají se genetickým poradenstvím. Rovněž pro většinu soukromých genetických poraden jsou nezbytnou součástí dobře fungující cyto-

netické laboratoře, stejně tak jako pro centra asistované reprodukce. V centrálním registru genetických laboratoří je přihlášeno 25 cytogenetických laboratoří z ČR.

Cytogenetické vyšetření slouží především ke stanovení karyotypu nemocných s vrozenými vývojovými vadami, v prenatální diagnostice a při asistované reprodukci k určení chromosomového vybavení plodů. Dále jsou v systému klinické genetiky a při onkologických klinikách cytogenetické laboratoře, které vyšetřují změny chromosomů u hematologických onemocnění, případně u solidních nádorů. Tato vyšetření jsou nezbytná pro zpřesnění diagnózy a určení prognózy některých nádorových onemocnění. Cytogenetické laboratoře patří také k jednomu z laboratorních oborů hygienické služby, kde jsou využívány při testování mutagenních účinků chemických látek na lidský organismus na chromosomové úrovni.

## Klasická klinická cytogenetika

Přesný počet lidských chromosomů byl zjištěn v roce 1956 Tjio a Levanem. Člověk má 46 chromosomů, žena má karyotyp 46,XX, muž 46,XY.

### Vyšetřované tkáně

Při cytogenetickém vyšetření v běžné klinické praxi je – pro zjištění konstitučního karyotypu u jedinců s podezřením na chromosomově podmíněné syndromy – nejjednodušší zjištění karyotypu lymfocytů periferní krve. Ve sterilním prostředí kultivujeme lymfocyty v růstovém mediu RPMI 1640, s přísadkou 10% fetálního telecího séra, k dělení stimulujeme lymfocyty některým z mitogenů, nejčastěji fytohemaglutininem (PHA) a po 72 hodinách zastavíme dělení se buňky v metafázi kolchicinem. Při prenatalní cytogenetické diagnostice vyšetřujeme buňky choriových klků, plodové vody, placenty nebo periferní krev plodu. Dále můžeme vyšetřovat kožní fibroblasty, případně vyšetřujeme buňky nejrůznějších orgánů. Při onkocytogenetických vyšetřeních pacientů s leukémiemi provádíme analýzu chromosomů buněk kostní dřene; u solidních nádorů jsou to buňky nádoru získané při velkých nebo malých chirurgických výkonech, excizích nebo punkcích.

### Cytogenetické studie

Chromosomy pozorujeme ve světelném mikroskopu v době dělení buňky, v tzv. metafázi, kdy sestávají ze dvou sesterských chromatid. Genetický základ chromatidy je dvojitá šroubovice DNA a proteiny histonového i nehistonového typu. Genetický materiál jádra barvitelný specifickými barvivy se nazývá chromatin. Jde o název cytologický, který je zavedený pro komplex DNA, RNA a proteinů. Celý genom haploidní lidské buňky obsahuje přibližně 1 m DNA, průměrně velký chromosom sestává z 5 cm DNA. Průměrná chromatida je přibližně 5 μm dlouhá a existuje několik modelů pro způsob tzv. zabalení 5 cm DNA do 5 μm dlouhé chromatidy. V současné době je nejvíce uznáván model podle Darnella (2).

### Pruhování chromosomů

Chromosomové preparáty byly barveny až do r. 1969 konvenčními metodami barvení, tj. Giemsovým barvivem nebo orceinem. Od roku 1970 se ve všech laboratořích začaly používat techniky pruhování chromosomů, které jsou nyní zcela bezpodmínečnou součástí každého klasického cytogenetického vyšetření. K přesné identifikaci jednotlivých chromosomových párů používáme různé techniky barvení, nejčastěji tzv. G-pruhování, při kterém se chromosomové preparáty barví Giemsovým barvivem poté, co byly enzymaticky (trypsin) nebo chemicky (SSC) ošetřeny. Současná mezinárodně platná cytogenetická nomenklatura a standardizace (ISCN – International Standardization and Cytogenetic Nomenclature 1995) je postavena na analýze pruhovaných karyotypů, kde každý chromosom je rozdělen na oblasti číslované směrem od centromery k telomerám. Standardizované zápisy početních a strukturních změn chromosomů umožňují klinickým genetikům, onkologům, hematologům a dalším spolupracovníkům rychlou orientaci v cytogenetických nálezech.

Pruhování na chromosomech je jasně viditelné jen po jejich určité spirální zaci a je v přímém vztahu se stupněm kondenzace chromatinu. U člověka můžeme po obarvení G- nebo R-pruhovacími technikami určit až

2000 pruhů v haploidní sadě v profázi, zatímco v prometáfázi se pruhy spojují asi do 850 pruhů a v metafázi do 400–450 pruhů. V takovém stupni kondenzace chromosomů jsou připravovány karyotypy při prenatalní, postnatalní i onkologické diagnostice. Pruhy, které se tvoří na chromosomech, obsahují 5–10 megabází (Mb) DNA. Molekulárními metodami studované fragmenty DNA jsou přibližně 200–300 kilobází (kb) velké. Pokroky metod molekulární biologie a nové poznatky o stavbě chromosomů zpřesnily analýzu genomu současně se zvýšenou rozlišovací možností analýzy, jak uvádíme dále.

### Metody hodnocení chromosomů

Základní metodou hodnocení chromosomů je jejich studium v mikroskopu. Mikroskopy musí být vybaveny velmi kvalitní optikou s vysokou rozlišovací schopností. Při cytogenetickém vyšetření nádorových buněk, kde získané odchylky chromosomů můžeme zachytit jen v malých buněčných klonech, sledujeme nejméně 15, nejčastěji však 22 mitóz. Podle závažnosti cytogenetického nálezu se počet sledovaných mitóz zvyšuje, často provádíme podrobnou analýzu i více než 50 mitóz. V současné době je většina cytogenetických laboratoří vybavena počítačovou analýzou obrazu, která umožňuje rychlejší přípravu karyotypů, ukládání analyzovaných mitóz a tím i lepší dokumentaci a archivaci výsledků pro nejrůznější účely. Pokud v laboratoři není počítačová analýza obrazu, je nutné, aby alespoň jeden mikroskop byl vybaven automatickým nebo digitálním fotoaparátem a tím byla umožněna řádná dokumentace patologických nálezů.

## Molekulární cytogenetika

### Fluorescenční *in situ* hybridizace

Základní metodou molekulární cytogenetiky je hybridizace *in situ*, která se používá v různých metodických obměnách podle použitých typů sond DNA.

Metody hybridizace *in situ* jsou postaveny na schopnosti vazby jednořetězcové DNA s komplementárními úseky cílové DNA, která je fixovaná na mikroskopickém preparátu. V současnosti jsou většinou používány neradioaktivně značené sondy a průkaz navázání sondy se provádí nepřímou nebo přímou imunofluorescencí ve fluorescenčním mikroskopu. Molekulárními metodami studované fragmenty DNA jsou přibližně 200–300 kb velké. Metoda fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je v klinické cytogenetice úspěšně využívána při:

- studiu karyotypu buněk v metafázi nebo interfázi a lokalizaci genů,
- početním určování a přesné identifikaci strukturních chromosomových odchylek a marker chromosomů,
- mapování genů a DNA sekvencí,
- detekci minimální reziduální choroby nebo časného relapsu u leukémií a zhoubných nádorů,
- monitorování výsledků chemoterapie a/nebo transplantace kostní dřene u nemocných s leukémiemi,
- detekci typu buněk, které jsou zahrnuty v neoplastickém procesu.

Identifikace fluorescenčního signálu je možná přímo z fluorescenčního mikroskopu, citlivější však je analýza z mikroskopu vybaveného velmi výkonnou CCD (charge coupled device) kamerou, napojenou na počítač se speciálním programem pro FISH. Citlivost metody se tak zvyšuje o několik řádů. Obraz získaný na monitoru je kvalitnější než ten, který vidíme pouhým okem v mikroskopu, protože CCD kamera je pro zachycení signálu citlivější než lidské oko a počítačový program dovoluje úpravu obrazu ve smyslu zesílení signálu a potlačení nespecifického pozadí. Počítačová analýza obrazu umožňuje kvantitativní zpracování získaných dat, měření vzdáleností jednotlivých signálů a vytváření jednoho obrazu z více záznamů.

### Sondy DNA

Sondy používané k určení vrozených a získaných chromosomových odchylek můžeme rozdělit do tří hlavních skupin:

1. Sondy, které hybridizují **se specifickými chromosomovými strukturami**, což jsou obvykle centromerické oblasti obsahující alfa a beta satelitní sekvence DNA. Satelitní DNA přítomná v centromerické oblasti je pro většinu chromosomů specifická, je vysoce repetitivní a tandemové uspořádání zasahuje oblast velkou až 4000 kb. Kromě centromerických sond existují také sondy na subtelomerické a telomerické oblasti lidských chromosomů. Sondy je možné použít také k vyšetření nedělicích se buněk (tzv. interfázická FISH – I-FISH).
2. Sondy, které hybridizují **s jedinečnými sekvencemi DNA**. Jsou to obvykle genomické klony, které se liší velikostí v závislosti na klonovacím vektoru, kterým může být plasmid (500 bp–5 kb), kosmid (20–50 kb), bakteriofág lambda (8–15 kb) nebo umělé kvasinkové chromosomy (YAC klony 50–1000 kb), umělé bakteriální klony (BAC), P1 klony a další. Tyto sondy je možné použít také ke sledování nedělicích se buněk (I-FISH).
3. Sondy, které hybridizují **s mnohočetnými chromosomovými sekvencemi**. Tyto sondy jsou obvykle připraveny ze specifických knihoven DNA, lze jimi označit celý chromosom (tzv. chromosome painting – malování chromosomů), nebo jsou získány mikrodisekcí určité části chromosomu cíleně odebranou pod mikroskopem mikromanipulátorem z fixovaných preparátů a získaná DNA je pak dále amplifikovaná metodou DOP-PCR. Malovací sondy nelze využít při sledování nedělicích se buněk, protože signál jednotlivých chromosomů je v interfázi disperzní podle domény, kterou zaujímají v jádře.

### Srovnávací genomová hybridizace (CGH)

CGH (CGH – z angl. comparative genomic hybridization) je molekulární cytogenetická metoda, která umožňuje detekovat a mapovat relativní počet kopií jednotlivých sekvencí mezi různými genomy. Normální a studovaná DNA jsou odlišně označeny některými z haptenu a jsou simultánně kohybridizovány na normální metafázické chromosomy. Oblasti zmnožení nebo ztráty DNA sekvencí, jako jsou delece, duplikace

nebo amplifikace, jsou zvýrazněny rozdílnou barvou homologů. To je způsobeno změnou poměru intenzity signálu obou fluorochromů měřené podél cílových, normálních chromosomů. Poměr intenzit signálů je zpracován nejméně u 10 mitóz počítačovým programem, který určí místa, v nichž pak nalezneme příslušnou změnu ve smyslu delece nebo amplifikace. CGH nelze využít u reciprokových translokací, inverzí a inzercí, při kterých se nemění poměr počtu kopií sekvencí DNA. Na stejném principu jako CGH je založena metoda mikročipů a tzv. matrix CGH. Ta se liší od CGH tím, že jako podklad pro hybridizaci slouží nikoliv celé mitózy, ale jednotlivé oligonukleotidy představující části DNA oblastí (např. subtelomerických) nebo vybraných genů, které jsou roboticky natištěny na podložním skle (tzv. chip). Na takto připravené preparáty je pak kohybridizovaná rozdílně značená kontrolní a sledovaná DNA. Výsledná barva daného políčka ukazuje přítomnost nebo nepřítomnost určitého genu nebo části chromosomu.

### Mnohobarevné karyotypování lidských chromosomů (mFISH a mBAND)

Od r. 1996 je možné rozlišit barevně každý jednotlivý pár autosomů a pohlavní chromosomy. Jde o další variantu FISH metody, při které jsou pěti fluorochromy kombinatoriálním způsobem označeny jednotlivé páry autosomů i pohlavní chromosomy. Výsledný obraz je analyzován počítačem, který na základě proměření intenzity fluorescenčních signálů přiřadí k příslušným chromosomům tzv. pseudobarvy (tj. klasifikační barvy). Metoda mFISH je velmi vhodná při určování původu tzv. marker chromosomů, a to jak v klinické, tak i nádorové cytogenetice. Na podobném principu je postavena také metoda mnohobarevného pruhování s vysokou rozlišovací schopností – mBAND. Metody mnohobarevné analýzy jednotlivých chromosomů využíváme v nádorové cytogenetice, stejně jako i v klinické cytogenetice při studiu komplexních změn karyotypu a při určování původu marker chromosomů. Touto metodou lze přesně lokalizovat místo zlomu na chromosomech, zjistit rozsah delecí nebo duplikací apod. V současné době je možné zakoupit sondu pro mBAND pro všechny autosomy a pro X chromosom.

### Indikace k vyšetření molekulárně-cytogenetickými metodami

Metody FISH používáme vždy cíleně, na základě výsledků klasického cytogenetického vyšetření a po domluvě s genetikem nebo ošetřujícím lékařem. Přímé vyšetření metodou FISH bez výsledků klasické cytogenetiky je možné jen v případech, kdy lze použít tzv. interfázickou FISH (I-FISH) na nedělicích se buňkách, např. při nezdaru kultivace jakéhokoliv typu buněk pro cytogenetické vyšetření, při časovém stresu vyvolaném pozdní amniocentézou, při rychlém vyšetření před *in vitro* fertilizací nebo preimplantačním vyšetřením pólových tělísek, blastomer nebo blastocyst, při zjišťování pohlaví nebo chromosomového vybavení plodu při prenatální a postnatální diagnostice nebo při



monitorování léčby u onkohematologických nemocných včetně transplantace kostní dřeně. Dále používáme I-FISH při sledování amplifikace některých genů, jako je např. amplifikace N-myc onkogenu při diagnóze neuroblastomu, amplifikace c-myc onkogenu u některých nádorů, amplifikace Her-2neu onkogenu u nádoru prsu, při diagnostice nádorů močového měchýře, mozkových nádorů a v mnoha dalších případech. CGH využíváme zatím hlavně v onkologii při sledování amplifikací a delecí. Předpokládáme, že se bude stále více cíleně používat čipová technologie včetně matrix CGH.

## Klinická cytogenetika

Chromosomové odchylky mohou být:

- Početní (numerické):
  - a) autosomové,
  - b) heterochromosomové (pohlavních chromosomů).
- Strukturní:
  - a) autosomové,
  - b) heterochromosomové (pohlavních chromosomů).

### Odchylky autosomů a pohlavních chromosomů

U syndromů spojených s početními nebo strukturními odchylkami chromosomů se klinické příznaky značně překrývají, ale základními a společnými znaky jsou: nízká porodní hmotnost, neprospívání, mentální retardace, malá postava, mikrocefalie, anomální umístění očí, dysmorfie tváře, nízká posazené uši, vrozené srdeční a mozkové vady, vrozené vývojové vady močového a pohlavního ústrojí a další. Kromě těchto společných vývojových vad je většina syndromů charakterizována dalšími typickými malformacemi (1, 2).

Početní odchylky pohlavních chromosomů, které jsou častější než strukturní přestavby, mohou vzniknout během meiózy nebo při následujících děleních. Změny počtu X nebo Y chromosomů jsou pak nalézány buď ve všech buňkách těla, nebo jen v některé tkáni. Jsou-li přítomny jen v některých tkáních, zatímco v jiných je cytogenetický nálezní normální, nazýváme takový stav chromosomovou mozaikou. Rovněž strukturní změny pohlavních chromosomů mohou být přítomny v mozaice.

V tabulce 1 uvádíme nejznámější chromosomálně podmíněné syndromy a jejich četnost v populaci.

### Prenatální diagnostika

Pro prenatální diagnostiku a při indikaci vyšetření chromosomů periferní krve rodičů nebo buněk plodu po odběru choriových klků, plodové vody nebo fetální krve je důležitá genetická porada ve specializovaných genetických poradnách. Na základě studia rodokmenu rodiny genetik rozhodne, která forma cytogenetického vyšetření je vhodná pro danou rodinu a jak vysoká je genetická zátěž a s ní spojené riziko porodu poškozeného dítěte.

### Onkocytogenetika

Vzhledem k tomu, že až do roku 1970 bylo používáno jen klasické homogenní barvení chromosomů, byly

**Table 1.** The most frequent chromosomal syndromes, frequency of numerical and structural changes of sex chromosomes and autosomes

Sex chromosomes		
47,XYY	♂	1 : 1 000
46,XX	♂	1 : 900
45,X/46,Xinv(Y)	♂	1 : 4 000
45,X/46,XY	♀	1 : 30 000
45,X and 45,X mosaic	♀	1 : 2 500
47,XXX	♀	1 : 800
FraX		1 : 1200 males, 1 : 2000 females
Autosomes		
47,XX, +13 or 47,XX,+13		1 : 20 000
47,XX,+18 or 47,XY,+18		1 : 6 000
47,XX,+21 or 47,XX,+21		1 : 850
47,XX, +marker or 47,XY,+marker		1 : 5 000
Deletion		1 : 10 000
Inversion		1 : 8 000
D/D translocation		1 : 1 200
D/G translocation		1 : 5 000
Mutual translocations		1 : 1 200

According Vogel-Motulsky: Human Genetics, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg 1997

u nádorů popisovány jen početní odchylky nebo velké přestavby chromosomů. Nejvýznamnější objev 60. let minulého století byl nálezní tzv. filadelfského chromosomu (Ph chromosom). Zasloužili se o něj Nowellem a Hungerfordem v roce 1962 u nemocných s chronickou myeloidní leukémií (CML). Ph chromosom je stabilní marker typický pro CML a jeho objev stimuloval rozsáhlý cytogenetický výzkum nádorových buněk. Podpořil rovněž představu té doby, že každý typ nádoru bude mít svůj typický marker chromosom. Cytogenetické nálezy však tuto představu nepotvrdily, právě naopak, Ph chromosom zůstal déle než 15 let jediným příkladem specifické změny u nádorů. Teprve Rowleyová v roce 1972 po zavedení G-pruhovacích technik barvení zjistila, že Ph chromosom vzniká reciprokní translokací mezi chromosomy 9 a 22. V dalších letech byly nalezeny nové specifické cytogenetické odchylky, které se staly důležitým diagnostickým kritériem při vyšetřování určitých typů leukémií, lymfomů a solidních nádorů. Častěji vyšetřována jsou hematoonkologická onemocnění vzhledem ke snadnějšímu odběru i zpracování buněk kostní dřeně a/nebo periferní krve pro cytogenetické analýzy.

Většina změn, které nacházíme v nádorových buňkách, je klonální. Podle mezinárodně uznávané definice považujeme za klonální změnu nálezní dvou mitóz se stejnou odchylkou ve smyslu chromosomové přestavby (translokace, inverze, inzerce, amplifikace) nebo stejným nadpočetným chromosomem, nebo tří mitóz, ve kterých stejný chromosom chybí (3, 4).

Chromosomové změny v nádorových buňkách jsou získané a musíme je odlišovat od změn konstitučních, které jsou vrozené a jsou obvykle přítomny ve všech buňkách těla.

Chromosomové odchylky v nádorových buňkách mohou být:

- bez ztráty chromosomového materiálu (translokace, inverze),
- se ztrátou chromosomového materiálu (delece určité části chromosomu až úplná ztráta neboli monosomie),
- se získáním chromosomového materiálu (amplifikace genů až celých chromosomů).

U preleukémií a leukémií jsou známy specifické translokace, delece, inverze, a genové amplifikace, které jsou spojené s určitým typem nebo subtypem onemocnění, a cytogenetický nálezy je u těchto onemocnění uznávány jako důležitý prognostický ukazatel. Rovněž je známo, které aneuploidie a heteroploidie, tj. změny v počtu chromosomů, v nádorových buňkách jsou spojeny s lepší odezvou na terapii, příznivou prognózou a delší dobou přežití nemocných. Cytogenetická vyšetření lze využít při monitorování účinků chemoterapie a/nebo transplantace kostní dřeně. Při indikaci cytogenetického vyšetření v klinické hematologii a onkohematologii je vhodné velmi úzce spolupracovat se specializovanými onkohematologickými laboratořemi, při monitorování léčby pak s molekulárně biologickými laboratořemi.

Od r. 1970, kdy se začaly chromosomy barvit průhovacími technikami, bylo u nádorů popsáno více než 1800 zlomových míst na chromosomech. Jde o chromosomové změny, které se opakují a nejsou náhodné. Dá se proto předpokládat, že jsou zahrnuty v procesu iniciace nádorového bujení i v progresi onemocnění. Počet zjištěných a dále prostudovaných chromosomových odchylek u malignit se každoročně zvyšuje a jsou známy jejich klinické a biologické charakteristiky. Vznikl proto Atlas genetiky a cytogenetiky v onkologii a hematologii

([http://www.infobiogen.fr/service\\_s/chromcancer](http://www.infobiogen.fr/service_s/chromcancer)) jako další, volně přístupná databáze na internetu, která přináší cytogenetické a klinické nálezy u maligních onemocnění, a je připravena pro volné použití cytogenetiky, molekulární genetiky a lékaři ve všech lékařských odvětvích zainteresovaných v onkologii.

Dalšími volně přístupnými databázemi jsou Katalog chromosomových aberací prof. Mitelmana na adrese: <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman/current/aberrations> a katalog <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/CCAP>.

Ve všech jsou uváděny chromosomové aberace nádorových buněk. Nejčastější specifické změny a jejich prognostickou hodnotu u různých typů a subtypů leukémií a lymfomů uvádíme v tabulkách 2 a 3.

**Table 2.** Fused genes – hematopoietic tumors

t (9; 22)	(q34; q11)	c-ABL/BCR CML, ALL
t (15; 17)	(q21; q11)	PML/RARA APL
t (8; 21)	(q22; q22)	AML1/ETO AML-M2
t (4; 11)	(q21; q23)	AF4/MLL ALL, pre-B ALL, AML
t (1; 19)	(q23; p13.3)	PBX1, E2A Pre-B ALL
t (12; 21)	(p13; q22)	TEL/AML1 pediatric pre-B ALL
Inv (16)	(p13; q22)	CBFβ/MYH 11 AMMoL

Abbreviations: CML – chronic myeloid leukaemia, AML – acute myeloid leukaemia, ALL – acute lymphocytic leukaemia, AMMoL – acute myelomonocytic leukaemia

**Table 3.** Non-fused genes – hematopoietic tumors

t (8; 14)	(q24; q32)	c-MYC (8q24) BL, BL-ALL
t (8; 14)	(q24; q11)	c-MYC (8q24) T-ALL
t (8; 12)	(q24; q22)	c-MYC (8q24) B-CLL, ALL
t (14; 18)	(q32; q21)	BCL-2 (18q21) FL
t (11; 14)	(q13; q32)	BCL1/PRAD1 B-CLL and other

Abbreviations: BL – Burkitt lymphoma, ALL – acute lymphocytic leukaemia, FL – follicular lymphoma, CLL – chronic lymphocytic leukaemia

Vyšetření solidních nádorů se v ČR provádí zatím jen velmi sporadicky a většinou k výzkumným účelům. Jako samostatná a nová laboratorní metoda se začíná rozvíjet teprve v posledních letech u dětských nádorů (retinoblastom, neuroblastom) a u některých nádorů mozku (gliomy), u nádorů močového měchýře, karcinomu mammy a dalších, většinou metodami molekulární cytogenetiky. V tabulce 4 přehledně uvádíme jen některé známé chromosomové přestavby u vybraných nádorů.

**Table 4.** Fused genes – solid tumors

t (11; 22)	(q24; q12)	FL1/EWS Ewing sarcoma
t (12; 22)	(q13; q12)	ERG/EWS Ewing sarcoma
t (12; 16)	(q13; p11)	CHOP/FUS Liposarcoma
t (2; 13)	(q35; q14)	PAX3/FKHR Rhabdomyosarcoma

## Závěr

Cytogenetické vyšetření vrozených nebo získaných odchylek chromosomů se stalo nezbytnou součástí při stanovení diagnózy v široké klinické praxi. Současně s rozvojem metod molekulární biologie a s jejich vstupem do medicíny se významně rozvíjí i klinická cytogenetika. Její nezbytnou součástí se stala molekulární cytogenetika, která umožňuje zpřesnění metod, vyšší citlivost a hlavně možnost stanovení normy nebo odchylek i v nedělicích se buňkách. Molekulárněcytogenetické metody jsou v ČR zaváděny do rutinní praxe a jsou velmi efektivně využívány.

## Literatura

1. Vogel, F., Motulsky, A. G. **Human Genetics.** Problems and Approaches. *Third, Completely Revised Edition*, Berlín : Springer Verlag 1997.
2. Nussbaum, R. L., McInnes, R. R., Willard, H. F. **Klinická genetiká.** Praha : Triton 2004.
3. Heim, S., Mitelman, F. **Cancer Cytogenetics.** *Second Edition*, New York : Wiley-Liss 1995.
4. Passarge, E. **Color Atlas of Genetics.** Georg Thieme Verlag 2001.
5. ISCN (1995) An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Mitelman F. editor, S. Karger, Basel 1995.

Redakci předáno 24. 2. 2005.

Adresa pro korespondenci:  
Prof. ing. Kyra Michalová, DrSc.  
Centrum nádorové cytogenetiky VFN a 1. LF UK  
Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky  
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2