

ONKOCYTOGENETIKA

Oddělení lékařské genetiky FN Brno

Nádorové onemocnění

- neregulovaný růst buněk /autonomní povaha buněčné proliferace / spojený s poruchou kontrolních mechanismů a s alterací buněčné diferenciaci

Genetické onemocnění na buněčné úrovni

První cytogenetický nález

1962 - Ph chromosom CML

1972 - nalezena reciproká translokace t(9;22)

princip: vznik fuzního genu (bcr/abl)

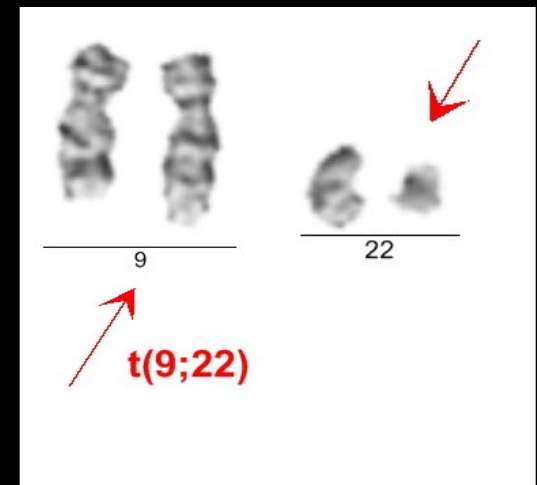
produkce nádorového proteinu

(chimerický protein)

t(9;22)(q34;q11) 95% CML

2% AML

25-30% ALL



cytogenetické výsledky přispívají:

- ✓ ke stanovení prognózy
- ✓ k volbě léčebného postupu
- ✓ monitorování průběhu onemocnění
- ✓ sledování cytogenetické remise

Současné hypotézy nádorové transformace

Příčina:

- inaktivace TU supresorových genů
- aktivace onkogenů

mechanismus: mutace

genové (bodové) - týkající se jednotlivých genů /nukleotidy /

chromosomové - týkající se struktury chromosomů

genomové - týkající se počtu chromosomů; aneuploidie a polyploidie

tvorba fuzního genu

tzv. polohový efekt

- **mutace**

→ hromadění mutací → nádorové bujení

- vznikají buď spontánně nebo jsou indukované

- fyzikálními
- chemickými
- biologickými

> faktory

- aby karcinogen uskutečnil změny v příslušném genu

musí mít mutagenní účinky

Vznik nádoru je vícestupňový proces

- následek postupného selhávání genetické kontroly dělení b.
- výsledek složité interakce gen. a epigen. působících faktorů

Iniciace - indukce mutací- změna genetického materiálu buňky

Promoce - působení nádorově promočních podnětů,

- preferovaný klonální růst preneoplastických buněk

Transformace (konverze) - změna fenotypu, vznik malig. klonu

jeho nekontrolované množení (klonální expanze)

a lokální růst nádoru - progrese

- ireverzibilní děj

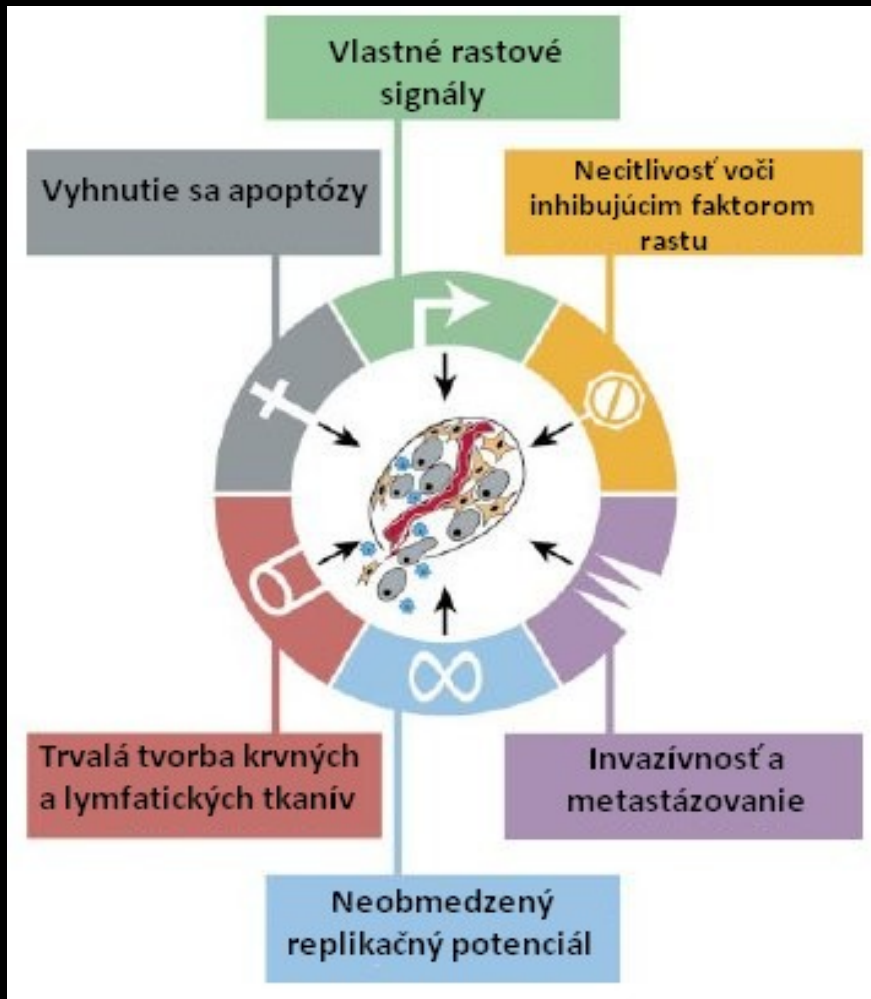
Tvorba metastáz

- charakter genetických aberací
v transformovaných buňkách → rozmanitý

✓ rozdíl genet. změn nejen mezi
jednotlivými nádor. typy

✓ heterogenita těchto abnormalit
je vysoká i v různých stádiích
vývojového procesu daného nádor. typu

Nádor získáva nové funkčné schopnosti →



Hanahan, Weinberg

- tvorba vlastných rúst. signálov
- necitlivosť voči inhibujúcim faktorom rústu
- invazívnosť a tvorba metastáz
- neomezený replikačný potenciál
 - enzým telomeráza
- angiogeneza
- vyhnutie sa apoptóze
- nestabilita genomu

Hematoonkologická onemocnění

Solidní nádory

Hematoonkologická onemocnění

- postihují kmenové krvetvorné b., mutace v hemopoetické b.
- porucha ve vyžívání krevních buněk, které si ponechávají schopnost množení při současné zástavě vyžívání
- rozdělení: leukemie (difuzní)
lymfomy (ložiskovitá)

etiologie multifaktoriální

➤ myeloblastické leukemie

➤ lymfoblastické leukemie

➤ leukemie bifenotypické

akutní
chronické

Blasty - nezralé buňky KD obsahující granula

Hlavní typy leukemií:

1. akutní myeloidní leukemie (AML)

/akutní myeloblastická leukemie, akutní nonlymfoblastická leukemie/

2. chronická myeloidní leukemie (CML)

3. akutní lymfoblastická leukemie (ALL)

/akutní lymfocytární leukemie/

4. chronická lymfatická leukemie (CLL)

1. Akutní myeloidní leukemie

Frekvence vzniku nových onemocnění: 4/100 000/rok
převaha u dospělých

Charakteristika:

akumulace nezralých nonlymfoblastických bb v kostní dřeni, periferní krvi, ostatních tkáních

FAB klasifikace:

AML skup. M0 - M7

podle převládající diferenciaci
a stupně vyzrání

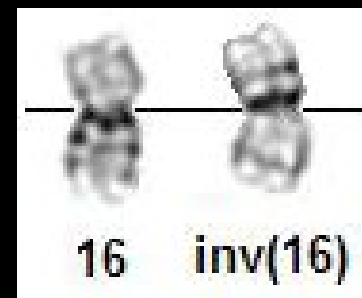
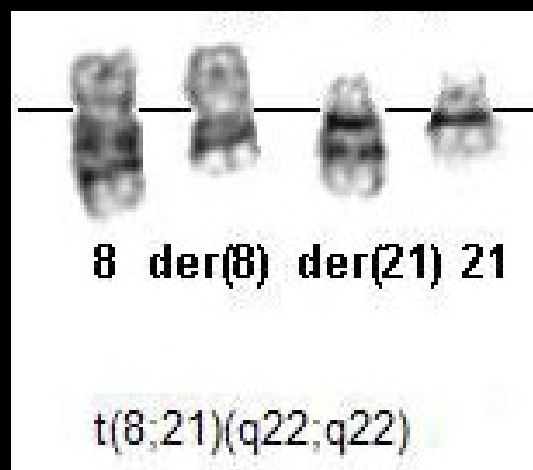
Dobrá prognóza:

t(15;17)(q22;12) AML M3

PML/RAR α -podporuje účinek kys. α -trans-retinové
90% kompl. remisí

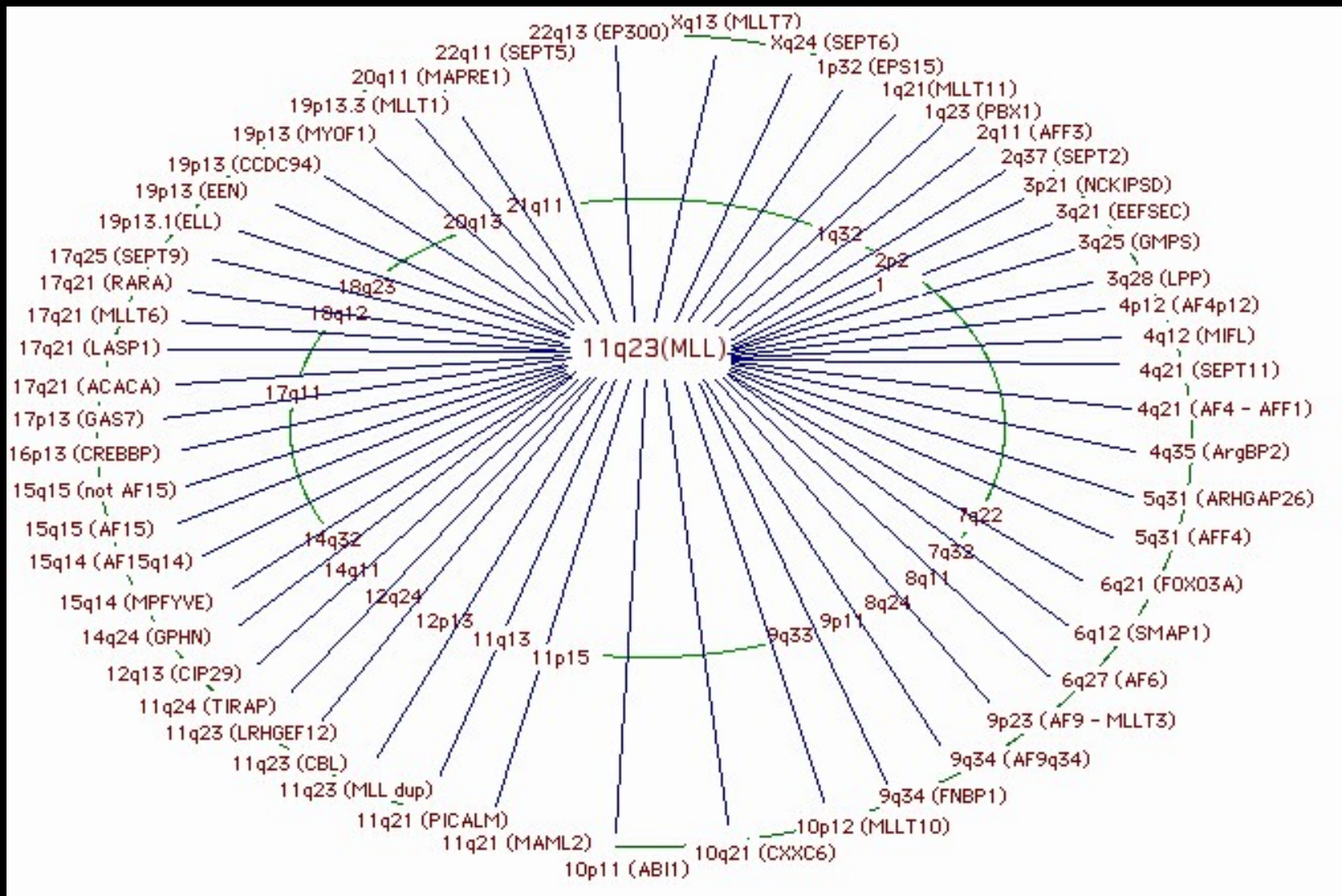
t(8;21)(q22;q22) AML M2

inv(16)(p13q22) AML M4

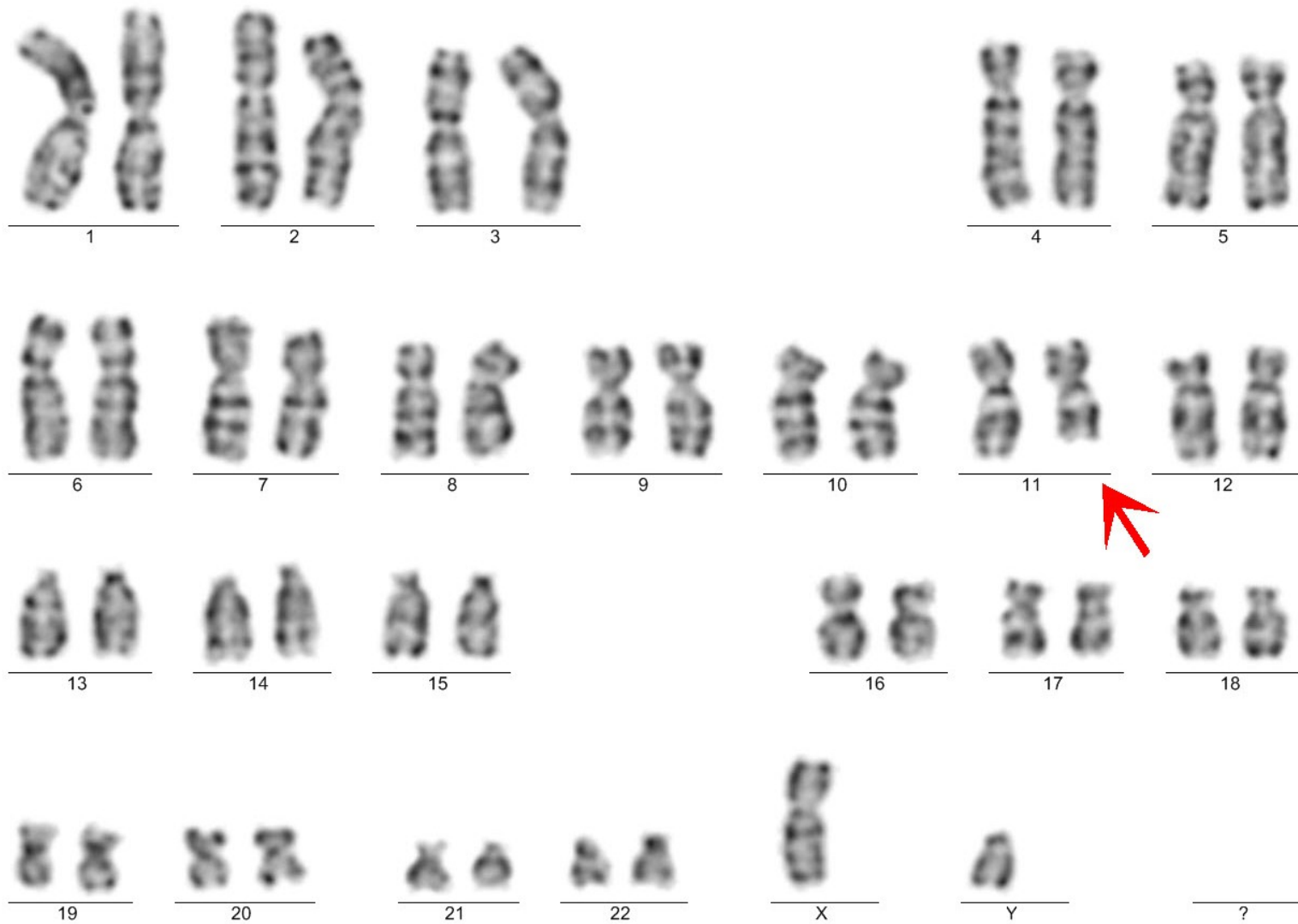


Špatná prognóza:

+ MLL (11q23) s různými CH 10-20% AML
komplexní karyotyp



MLL and partners - 73 recurrent translocations and 54 partner genes. Editor 06/2000; last update 10/2007



46,XY,del(11q)

2. CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKEMIE

CML nadprodukce granulocytů a megakaryocytů v KD
vznik nových CML 1/ 100 000 / rok

I. Chronická fáze - až 3 roky

II. akcelerace

III. blastická krize

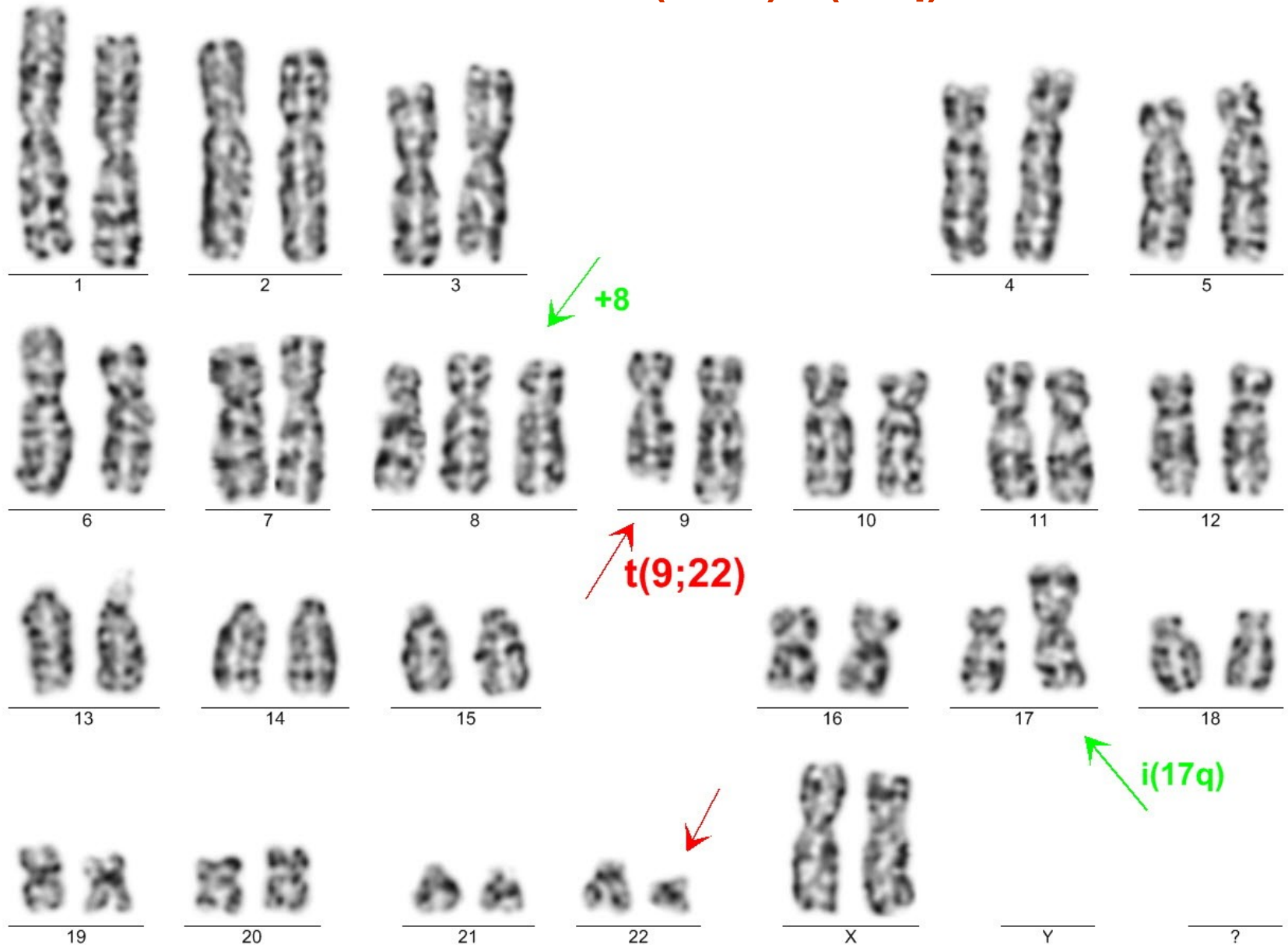
t(9;22) = Ph = bcr/abl

sekund.: +8, i(17q), +19

CML bcr/abl



47,XX, +8, t(9;22), i(17q)



3. Akutní lymfoblastická leukemie - ALL

Akumulace maligních nezralých lymfoidních buněk v KD, často i v PK
výskyt: nová onemocnění 3/100 000/rok
častěji děti 3-5let, dospělí pod 30 let

FAB klasifikace (cytomorfologicky) L1 - L3

cytogenetika:

numerické změny: hyperdiploidie 51-60 dobrá prognóza
47-50 střední

trisomie 18, 21, X, 4, 6, 10, 14, 17, 20

hypodiploidie špatná progn., 8% dospělých
5% dětí

4. Chronická lymfatická leukemie CLL

+12 nepříznivá progn. (samost.)

del(13q) gen RB1

del(17p) gen p53 nepříznivá progn.

del(11q) gen ATM

Panel: +12, RB1, ATM, p53

Hematoonkologická onemocnění

Solidní nádory

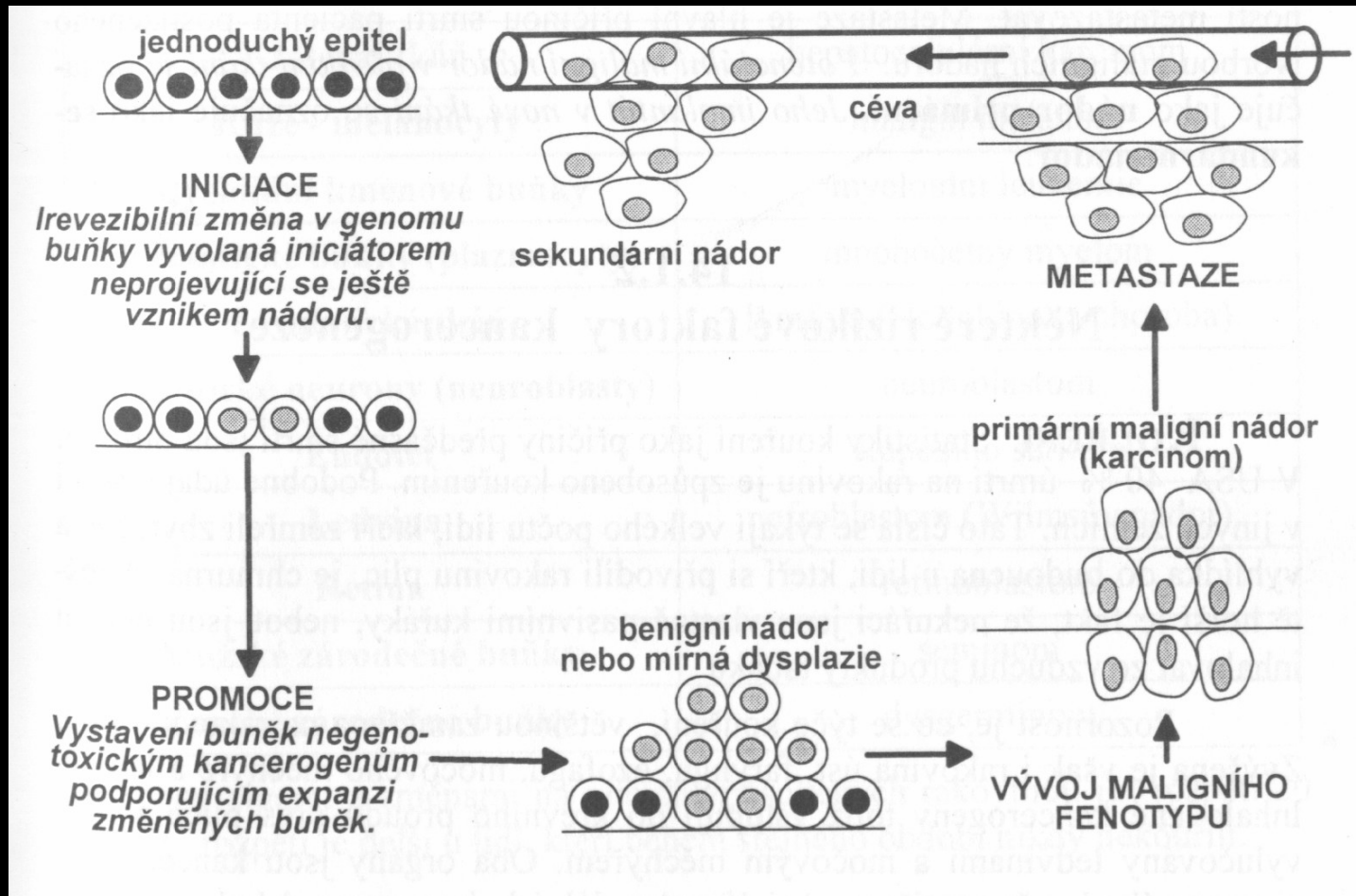
Nádory se obecně dělí:

- **Benigní** : dobře ohraničené, pomalu rostoucí b.
a neprorůstají do okolní tkáně
- **Maligní** : utlačují okolní tkáň a prorůstají do ní,
rychlý růst a bez odpovídající léčby vedou ke smrti
pacienta
- tvorba druhotných (sekundárních) ložisek, tzv. metastáz

Primární - vznikají z b. tkáně a z b. okolních struktur

Sekundární - vznikají jako následek metastatických procesů

SCHEMA MALIGNÍHO PROCESU



Rozdíly mezi nádory dospělých a dětí

Proti vlastnostem nádorů dospělých **nepříznivé !**

- Odlišná lokalizace a histogeneze
- Vyšší heterogenita a invazivita
- Rychlejší růst
- Bohatší vaskularizace
- Větší podíl růstové frakce - tj. dělení schopná část nádoru
- Vyšší tendence k tvorbě metastáz
- ✓ Větší senzitivita na CHT

Nádory CNS u dětí

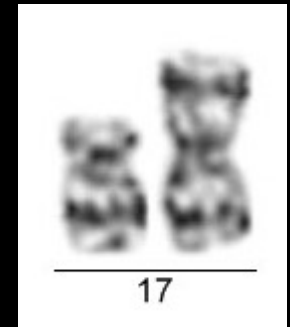
- heterogenní skupina nádorů
- 20 - 30 % všech dětských malignit
- incidence 3,2 novo diagnostikovaných případů na 100 tisíc dětí
- vznikají z buněk mozku a míchy, z připojených tkání, mozkomíšních obalů, se zbytku mezenchym. a epitel. tkaniva
- prognóza přežití závisí na lokalizaci, rozsahu onemocnění a histologickém typu onemocnění
- maligní a benigní



Meduloblastom

- nejčastější maligní nádor CNS u dětí
- 15-20 % všech primárních tu CNS dětí
- vysoce agresivní nádor s tendencí k šíření v CNS
- ✓ v laboratorní diagnostice → trend k mol. genetickému a cytogenetickému vyšetření
- biologické vlastnosti nádoru s prediktivním a prognostickým významem

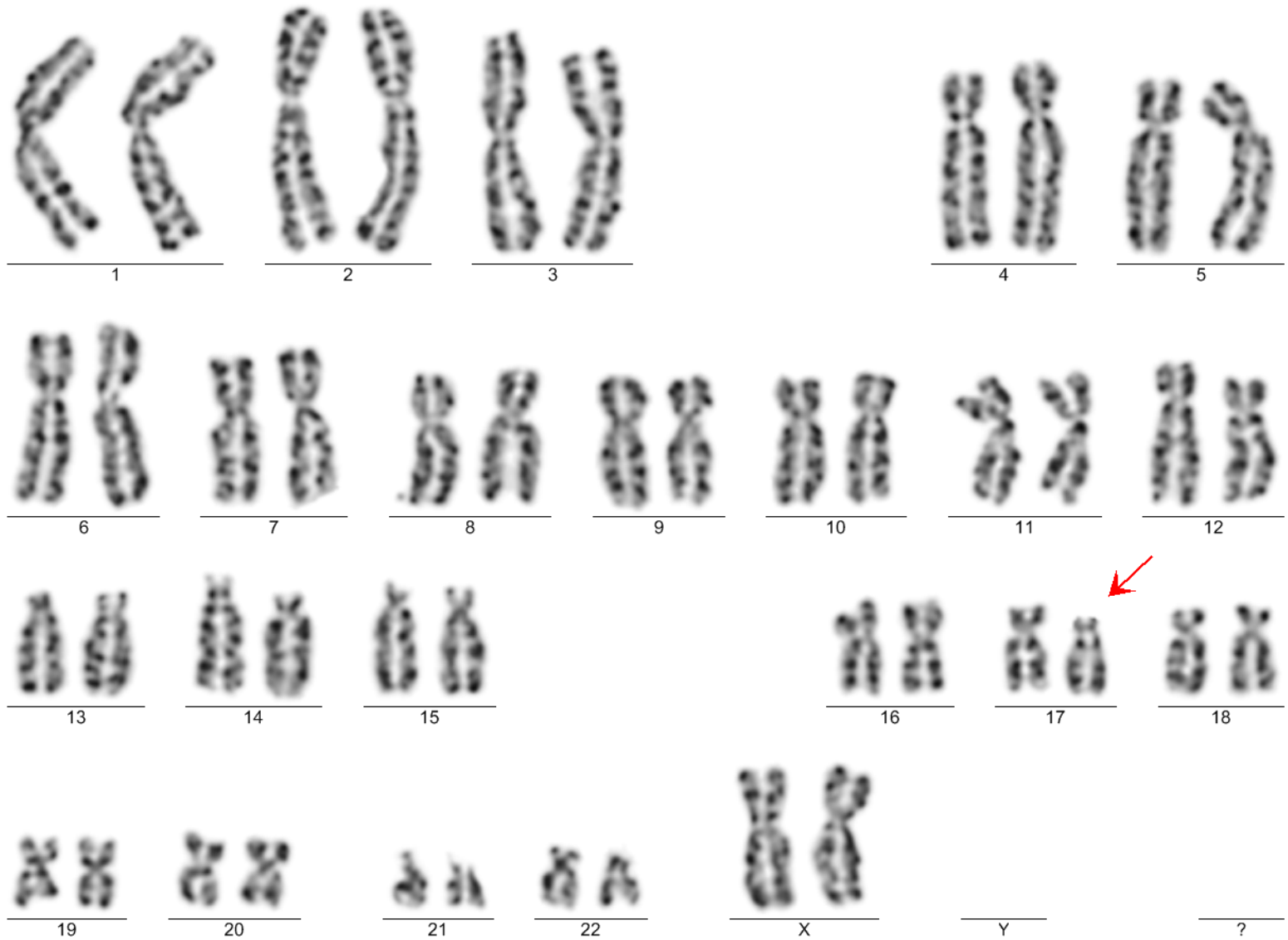
- amplifikace a/nebo zvýšená expresivita genů MYCC a MYCN
- přítomnost i(17q)
- ztráta 8, 9, 10q, 11 a 16q
- zisk 1, 7 a 9



TP53 gen

- protein p53
- lokalizace na chromosomu - 17p13
- významný nádorový supresor
- klíčový význam při regulaci bun. cyklu a apoptóze
- přítomnost standardního (nemutovaného)
proteinu p53 brání neoplastické transformaci b.
„strážce genomu“

46,XX,del(17p)



Sarkomy měkkých tkání a kostí

- heterogenní skupina nádorů
- incidence SA měkkých tkání 7-10%, SA kostí 5%

RABDOMYOSARKOM

EWING. SARKOM

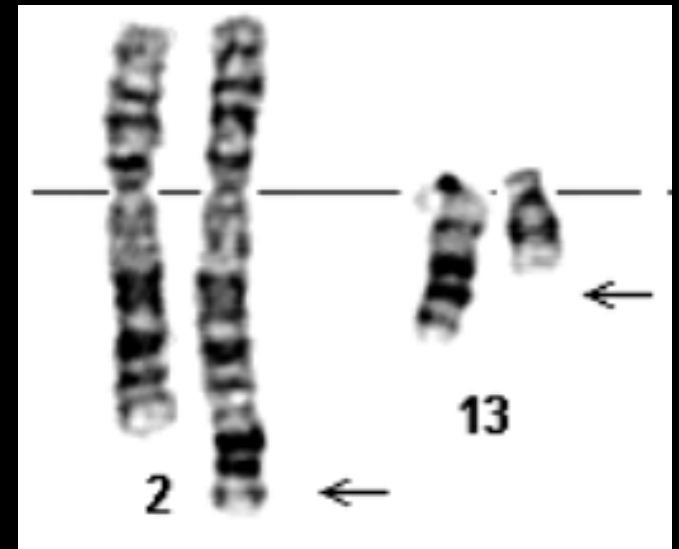
OSTEOSARKOM



Rabdomyosarkom

- 70% SA měkké tkáně u dětí
- agresivní onemocnění s tendencí k šíření do lymf. uzlin a k tvorbě metastáz
- pleomorfní, embryonální , alveolární

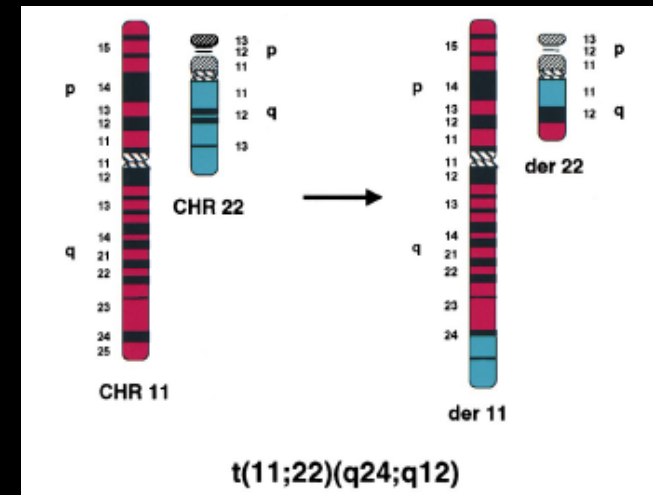
A-RMS : t(2;13) PAX3-FKHR (70%)
t(1;13) PAX7-FKHR



Nádory skupiny Ewingova SA

- Ewingův sarkom (ES) kostí, extra-skeletální forma a PNET
- 2. nejčastější primární maligní TU kostí u dětí a mladistvých (10-15%)

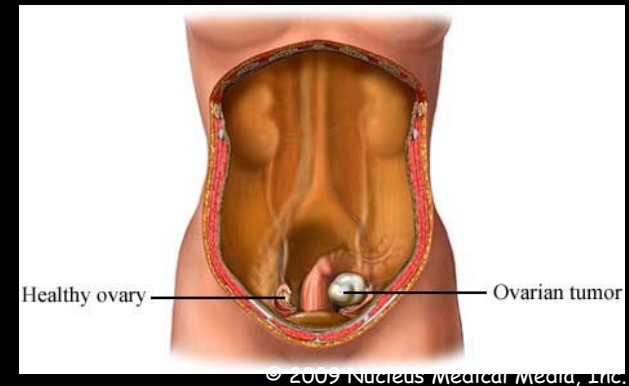
t(11;22) EWSR1/FLI1



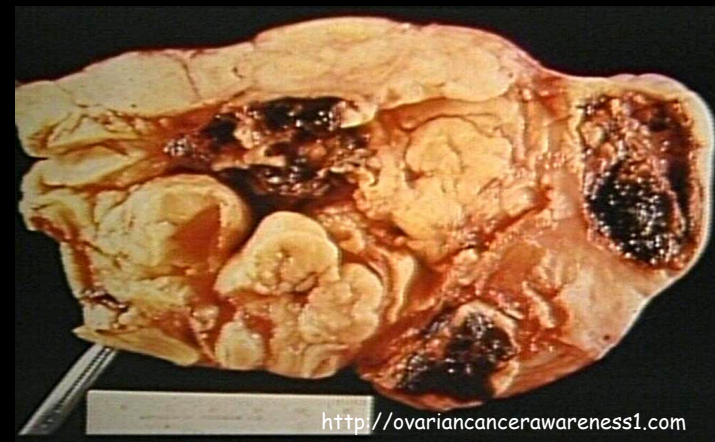


Germinální nádory

- heterogenní skupina nádorů
→ rozdílné biologické chování



- vaječníky, varlata /i mimo a to v oblasti CNS, kostrče/
- úspěšnost léčby v současnosti → 90% dětí s lokalizovaným a přibližně 7% dětí s pokročilým onemocněním v době dg.



12p

i(12p) – u testikulárních i ovariálních germ. TU

→ stejná /podobná/ nádorová geneze

→ amplikon 12p11.2-p12.1

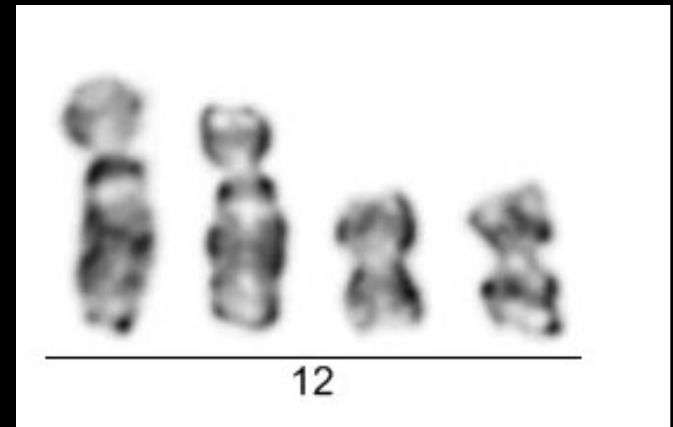
Kandidátní geny – Cyclin D2

KRAS2, JAW1, SOX5 a DAD-R

- získání 12p – závislost na věku / TGCT u dětí- bez /

- závislost progresu i agresivity nádorů

na počtu kopií 12p stále nejasná



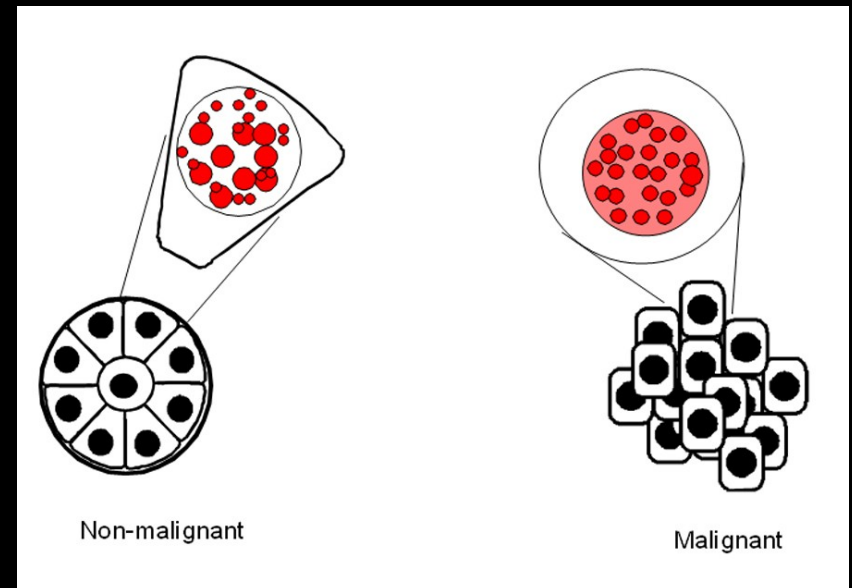
METODY VYŠETŘENÍ STRUKTURNÍCH A NUMERICKÝCH ABERACÍ CHROMOSOMŮ

Základní cytogenetické vyšetření

- kultivace KD, nádorové tkáně

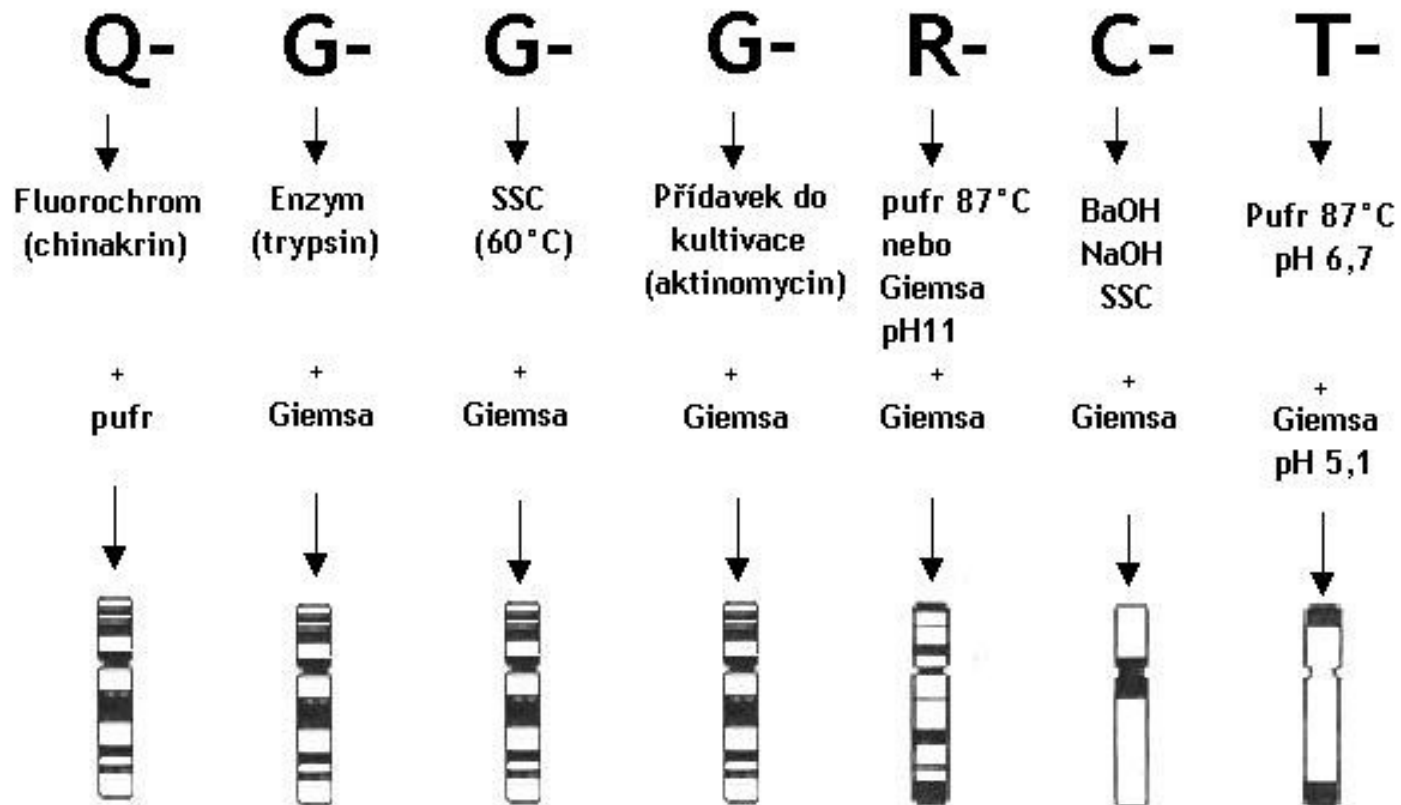
→ získání kvalitních mitóz
→ dobře rozložené
chromosomy

- krátkodobá kultivace
- dlouhodobá kultivace

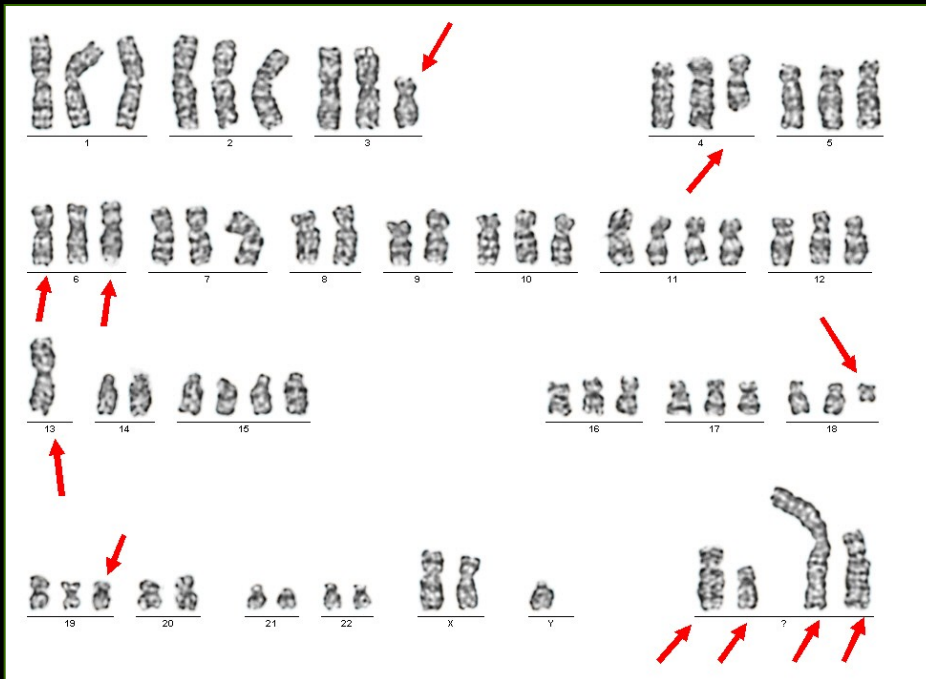
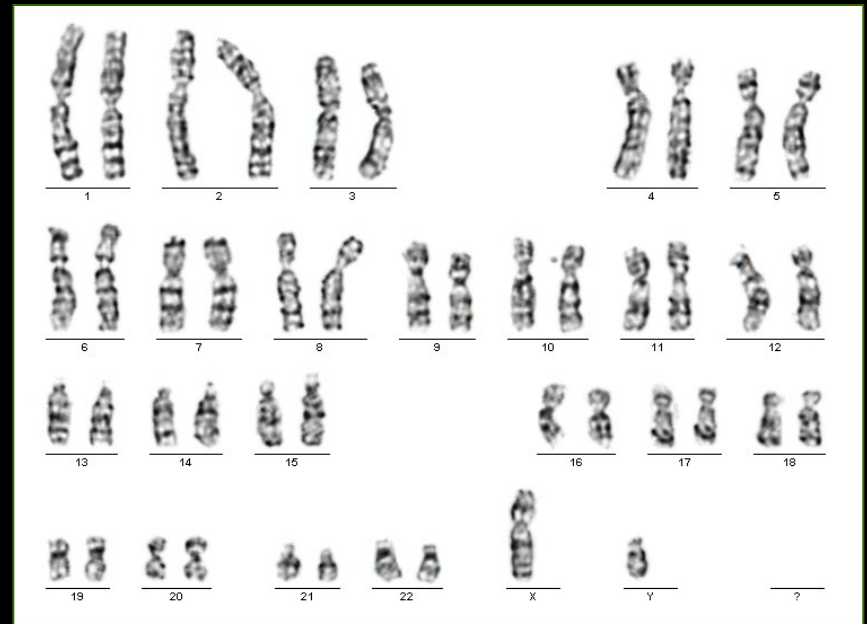
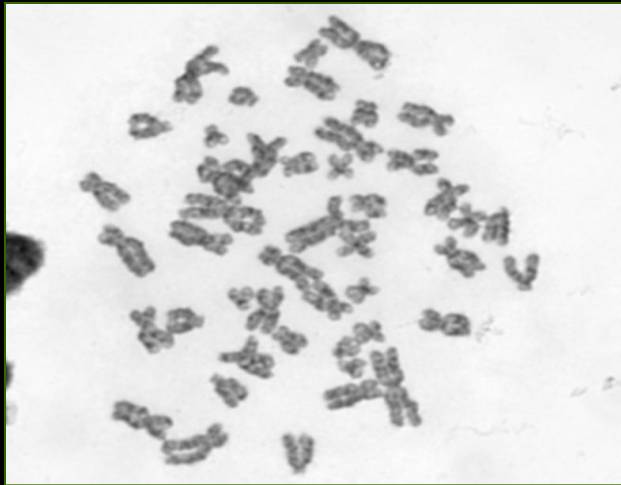


Základní cytogenetické vyšetření

PRUHY



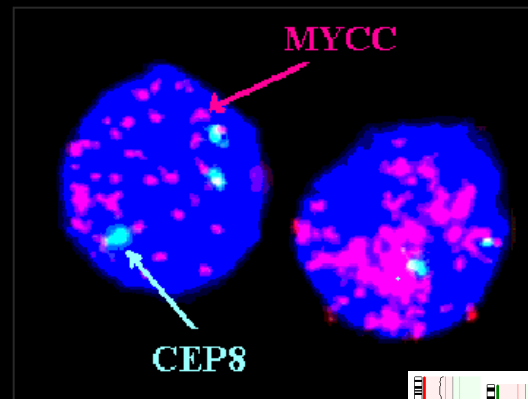
Normální karyotyp



Komplexní změny karyotypu

FISH

- KD, PK
- otisky nádorů /jen jádra/
- kultivované tkáně nádorů
- fixované TU v parafínu

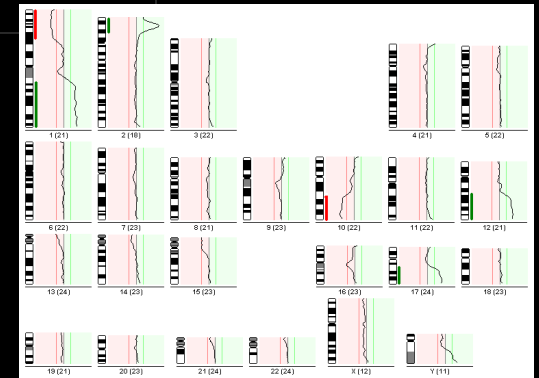


CGH

izolovaná DNA z

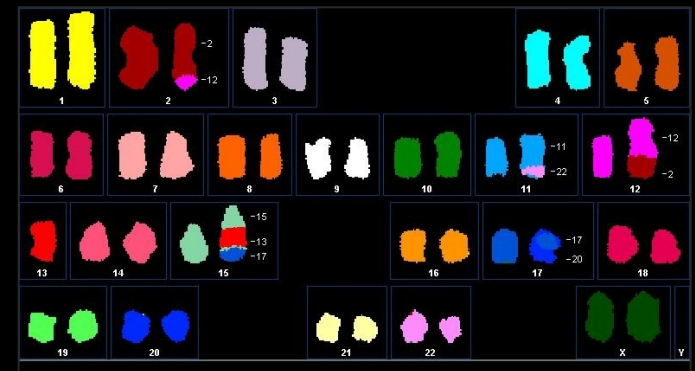
→ KD, nádorové tkáně

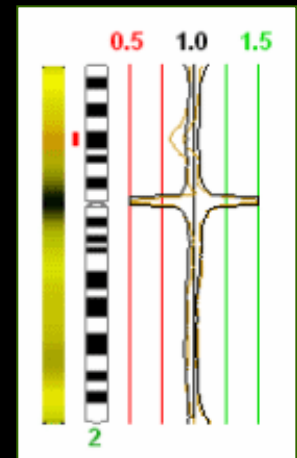
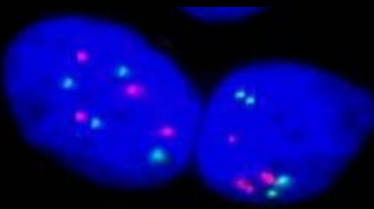
výhoda - potřebná jen DNA z testované tkáně



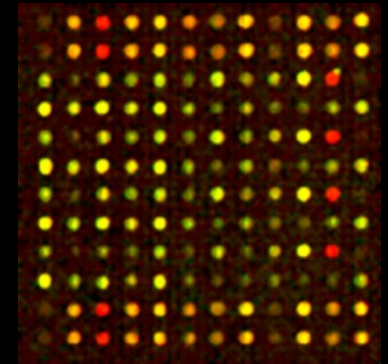
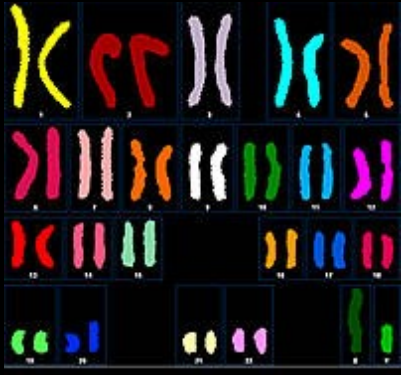
SKY

- pouze kultivovaná tkáň, KD, PK
- potřeba kvalitních mitóz a poměrně dobře rozložených chromosomů





- G-banding - karyotyp TU
- FISH
- CGH / HR-CGH
- SKY
- array - CGH



Doplňování se cytogenetických a molekulárních cytogenetických technik

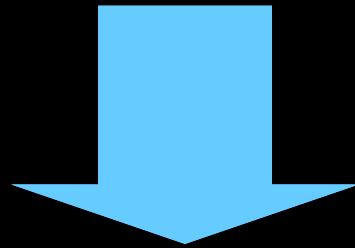


Nutnost správné kombinace metod !!

Význam cytogenetických vyšetření

- **identifikace specifických klonálních aberací**
postihujících jednotlivé typy nádorů,
delece TSG nebo amplifikace onkogenu
- **upřesnění, potvrzení dg. + prognostické markery**
i(12p), i(17q), N-myc,
určení míry rizika ve vnitřku diagnózy
identifikace pacientů: s nízkým /s vysokým rizikem
- **zjišťování dalších změn v rámci celého genomu,**
které můžou mít diagnostický a prognostický význam
- **kvantifikace celkové chromosomové nestability**
genomu

**komplexní analýza
cytogenetických změn**



**individualizace
léčebné terapie**