

Univerzita Karlova v Praze

1. Lékařská fakulta

Doktorské studijní programy v biomedicině

Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie



RNDr. Libuše Lizcová

Analýza komplexních změn karyotypu v nádorových buňkách a jejich význam
pro patogenezi a prognózu maligních onemocnění

Analysis of complex chromosomal rearrangements in tumor cells and their impact
on pathogenesis and prognosis of malignant diseases

Disertační práce

Vedoucí práce:

Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc

Doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc

Praha 2010

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby tato závěrečná práce byla archivována v Ústavu vědeckých informací 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou přednáškovou nebo publikační aktivitu, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v Digitálním repozitáři Univerzity Karlovy v Praze (<http://repozitar.cuni.cz>). Práce je zpřístupněna pouze v rámci Univerzity Karlovy v Praze.

V Praze

Libuše Lizcová

Identifikační záznam:

LIZCOVÁ, Libuše. *Analýza komplexních změn karyotypu a jejich význam pro patogenezi a prognózu maligních onemocnění. [Analysis of complex chromosomal rearrangements in tumor cells and their impact on pathogenesis and prognosis of malignant diseases]*. Praha, 2010. 81 s., 18 příl. Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Centrum nádorové cytogenetiky ÚKBLD. Vedoucí práce Michalová, Kyra a Zemanová, Zuzana.

Abstrakt:

Cytogenetická analýza genomu nádorových buněk je v současnosti nedílnou součástí vyšetření nemocných s nádorovým onemocněním. Detekce chromosomových aberací napomáhá nejen ke stanovení nebo upřesnění diagnózy, prognózy a monitorování úspěšnosti terapie, ale hraje také nezastupitelnou roli při objasňování příčin maligní transformace buněk. Analyzovali jsme komplexní přestavby karyotypu moderními molekulárně cytogenetickými metodami (I-FISH, mFISH, mBAND, CGH, arrayCGH, SNP array) u vybraných hematologických malignit a difúzních gliomů. Detailně jsme popsali jednotlivé chromosomové aberace a vytypovali jsme chromosomy a chromosomové oblasti, které jsou u konkrétních onemocnění do těchto přestaveb zahrnuty nejčastěji. Určili jsme rekurentní zlomová místa na chromosomech a poukázali tak na oblasti s možnou důležitou rolí v počátečních i pokročilých stádiích kancerogeneze u daných onemocnění. Z klinického hlediska jsme prokázali, že komplexní změny karyotypu v době diagnózy u různých typů malignit jsou velmi špatným prognostickým ukazatelem. Nález komplexního karyotypu byl u nemocných doprovázen špatnou odpovědí na léčbu, častými relapsy a krátkou dobou přežití. Detailní analýzy komplexních aberací přináší nové poznatky o mechanismu vzniku nádorových aberací a důsledcích chromosomové nestability genomu nádorových buněk pro patogenezi, progresi a prognózu onemocnění. Umožňují také detekci konkrétních zlomových míst, které mohou být charakterizovány na molekulární úrovni a následně být využity při vývoji nových léčebných intervencí.

Klíčová slova: komplexní přestavby karyotypu, molekulárně cytogenetická analýza, nádorová onemocnění, hematologické malignity, difúzní gliomy

Abstract:

Cytogenetic abnormalities are characteristic attribute of cancer cells. To date, clonal chromosomal aberrations have been found in majority of tumors and they represent important part of management of patients with malignant diseases. Using modern molecular cytogenetic methods (I-FISH, mFISH, mBAND, CGH, aCGH, SNP array) we performed precise analysis of complex chromosomal rearrangements (CCR) in patients with various hematological malignancies and diffuse gliomas. We described particular aberrations in detail and found chromosomes and chromosomal parts which were involved in CCR most frequently. We determined recurrent chromosomal breakpoints and pointed out to regions with important role in initiation and progression of the disease. From the clinical point of view, we proved that complex chromosomal aberrations found at the time of diagnosis are poor prognostic factor. In our cohorts of patients, complex chromosomal rearrangements were associated with resistance to treatment, higher occurrence of relapses and shorter overall survival. Results of our study proved significance of molecular cytogenetic analysis not only for diagnosis and prognosis of patients with different types of tumors but also for clarification of mechanisms leading to malignant transformation of the cell. Detailed chromosomal analyses of tumor cells have fundamental role in identification of genes and novel pathogenetic mechanisms which can serve as targets for development of new therapeutic interventions.

Key words: Complex chromosomal rearrangements, molecular cytogenetic analysis, malignant diseases, hematological malignancies, diffuse gliomas

Na tomto místě bych ráda poděkovala svým školitelkám, Prof. Ing. Kyře Michalové, DrSc. a Doc. RNDr. Zuzaně Zemanové, CSc. za možnost vypracovat v Centru nádorové cytogenetiky ÚKBLD VFN a 1. LF UK nejprve diplomovou a následně i disertační práci. Oběma velmi děkuji za odborné vedení, poskytnutí cenných rad při řešení daných témat a vůbec celkovou podporu, jíž si nesmírně cením, a to nejen při zpracování disertační práce. Dále děkuji celému kolektivu Centra nádorové cytogenetiky ÚKBLD VFN a 1.LF UK a Cytogenetické laboratoře ÚHKT (především RNDr. Janě Březinové, PhD). Předkládaná disertační práce by nevznikla bez podpory obou pracovišť, které rutinně zpracovávají a vyšetřují vzorky kostní dřeně nemocných s hematologickými malignitami, jež se staly podkladem pro veškeré publikační výstupy.

Také děkuji všem spolupracujícím lékařům a laboratořím za poskytnutí klinických údajů a vstřícnou spolupráci týkající se našich společných pacientů.

V neposlední řadě děkuji celé své rodině, především svému manželovi a svým rodičům za jejich trpělivost, podporu a vytvoření příznivých podmínek, bez kterých by jistě daná práce také nemohla vzniknout.

OBSAH

ÚVOD.....	8
CÍLE PRÁCE	10
NESTABILITA GENOMU NÁDOROVÝCH BUNĚK NA CHROMOSOMOVÉ ÚROVNI.....	11
SHRNUTÍ VÝSLEDKŮ NA ZÁKLADĚ PUBLIKAČNÍCH VÝSTUPŮ	17
1. Analýza komplexních přestaveb karyotypu	17
1.1. Chronická myeloidní leukemie	17
1.2. Myelodysplastické syndromy	21
1.3. Akutní myeloidní leukemie	26
2. Analýza komplexních přestaveb karyotypu u nemocných s prognosticky příznivou chromosomovou aberací	31
2.1 Akutní lymfoblastická leukemie.....	31
3. Analýza dalších změn karyotypu u nemocných s prognosticky příznivou chromosomovou aberací	36
3.1. Difúzní gliomy	36
SEZNAM PŘÍLOH.....	40
PŘÍLOHA 1-18	42
ZÁVĚR	60
LITERATURA POUŽITÁ V DOPROVODNÉM TEXTU	62
GRANTOVÉ PROJEKTY.....	68
SEZNAM PUBLIKACÍ, PŘEDNÁŠEK A POSTEROVÝCH SDĚLENÍ.....	69

ÚVOD

Analýza genomu nádorových buněk cytogenetickými a molekulárně cytogenetickými metodami je nedílnou součástí vyšetření nemocných s nádorovým onemocněním. Cytogenetické nálezy u těchto pacientů slouží ke stanovení nebo upřesnění diagnózy a prognózy, umožňují monitorování úspěšnosti terapie, detekci remise či relapsu onemocnění nebo sledování úspěšnosti transplantace hematopoetických kmenových buněk. Kromě významu pro diagnostiku a léčbu mají chromosomové analýzy nezastupitelnou roli při objasňování příčin maligní transformace buněk. Vedou k identifikaci genů a určení mechanismů, které hrají důležitou úlohu v počátečních i pokročilých stádiích nádorového onemocnění a které mohou být následně využívány pro vývoj nových léčebných strategií.

Pro většinu hematologických malignit, a v dnešní době i solidních nádorů, byly popsány specifické chromosomové aberace, které jsou charakteristické pro určitý subtyp nádorového onemocnění s odpovídajícími morfoloickými, imunofenotypickými a klinickými nálezy. V současné době je již známa celá řada specifických aberací včetně jejich molekulární podstaty, které pravděpodobně hrají důležitou roli při vzniku neoplázií. V nádorových buňkách však také dochází ke vzniku celé řady dalších náhodných i nenáhodných genetických změn, které se mohou vyskytovat u různých nádorů. Pro nádorové buňky jsou tyto numerické a strukturní odchylky typické a odrážejí jejich celkovou genomovou nestabilitu. Na chromosomové úrovni se velká míra nestability genomu nádorových buněk obvykle projevuje vznikem komplexních změn karyotypu.

Detailní analýzy komplexních aberací v nádorových buňkách umožňují detekci chromosomových oblastí a konkrétních zlomových míst, které jsou do těchto přestaveb zahrnuty častěji než jiné a mohou být následně charakterizovány na molekulární úrovni. Přináší tak nové poznatky o mechanismu vzniku nádorových aberací a důsledcích chromosomové nestability genomu nádorových buněk pro patogenezi, progresi a prognózu onemocnění.

V předkládané disertační práci jsme analyzovali komplexní přestavby karyotypu u nemocných s vybranými hematologickými malignitami a solidními nádory. K přesné detekci chromosomových aberací jsme využívali konvenční a molekulárně cytogenetické metody, především metody založené na fluorescenční in situ hybridizaci (FISH) – interfázickou FISH (I-FISH), mnohobarevnou FISH (mFISH) a mnohobarevné pruhování s vysokou rozlišovací schopností (mBAND). U vybraných pacientů jsme chromosomové

aberrace analyzovali pomocí čipových technologií, arrayCGH (array komparativní genomová hybridizace) a SNP array (single nukleotide polymorphism array).

Disertační práce je tvořena stručným úvodem shrnujícím současné poznatky o nestabilitě genomu nádorových buněk na chromosomové úrovni a souborem publikovaných prací opatřených komentářem k vlastním výsledkům.

CÍLE PRÁCE

Hematologické malignity

1. Analýza komplexních přestaveb karyotypu

1.1. Chronická myeloidní leukemie (CML)

1.2. Myelodysplastické syndromy (MDS)

1.3. Akutní myeloidní leukémie (AML)

Cytogenetická a molekulárně cytogenetická analýza komplexních přestaveb karyotypu v buňkách kostní dřeně dospělých pacientů s vybranými hematologickými malignitami; detekce rekurentních chromosomových aberací; určení chromosomů a mapování zlomových míst nejčastěji zahrnutých v komplexních přestavbách; zhodnocení vlivu komplexních přestaveb karyotypu na průběh onemocnění a prognózu pacientů.

2. Analýza komplexních přestaveb karyotypu u nemocných s prognosticky příznivou chromosomovou aberací

2.1. Akutní lymfoblastická leukemie (ALL)

Cytogenetická a molekulárně cytogenetická analýza komplexních přestaveb karyotypu v buňkách kostní dřeně dětských pacientů s ALL a prognosticky příznivou translokací t(12;21)(p13;q22); zhodnocení vlivu komplexních přestaveb karyotypu na průběh onemocnění a prognózu nemocných.

Difúzní gliomy

3. Analýza dalších změn karyotypu u nemocných s prognosticky příznivou chromosomovou aberací

3.1. Difúzní gliomy

Zavedení molekulárně cytogenetické analýzy pro detekci rekurentních chromosomových aberací u nemocných s jednotlivými typy difúzních gliomů; zhodnocení vlivu dalších chromosomových aberací na prognózu pacientů s oligodendroglíálními tumory a prognosticky příznivou kombinovanou delecí 1p/19q.

NESTABILITA GENOMU NÁDOROVÝCH BUNĚK NA CHROMOSOMOVÉ ÚROVNI

Základní funkcí mitotických chromosomů je přenos genetického materiálu a informace během buněčného cyklu (Ye a kol. 2007). Zachování genomové stability během tohoto komplexního procesu je nezbytné pro normální fungování somatických buněk a k jejímu zajištění proto byla v průběhu evoluce vyvinuta řada reparačních a kontrolních mechanismů (Fojjier a Riele 2006). Přesto v somatických buňkách dochází během buněčného cyklu ke vzniku aberací, které těmto mechanismům unikají a mohou následně vést k malignímu zvratu buňky a tedy ke vzniku různých nádorových onemocnění.

Nestabilita genomu nádorových buněk a s ní související chromosomové aberace jsou v současné době studovány již téměř celé století, kdy poprvé Boveri pozoroval neobvyklé chromosomové změny v dělicích se maligních buňkách (Boveri 1914). Od té doby bylo prokázáno, že nádorové buňky obsahují celou řadu získaných aberací, které se mohou manifestovat různými změnami sekvence DNA. Zahrnují substituce jednotlivých bází, inserci nebo delecii menších či větších segmentů DNA, přestavby, při nichž dochází ke zlomu DNA a daný úsek je připojen na jiné místo v genomu, zvýšení počtu kopií (ze dvou přítomných v normálním diploidním genomu) vedoucím někdy až ke stovkám kopií daného genu nebo naopak ke snížení kopií, které může vyústit v kompletní absenci dané DNA sekvence (Stratton a kol. 2009).

V posledních letech se ukázalo, že stabilitu nádorového genomu ovlivňují také faktory nezávislé na změnách v sekvenci DNA. Díky rozvoji molekulárně cytogenetických a molekulárně genetických metod tak byly popsány a objasněny mechanismy a dopady např. metylace DNA, acetylace histonů, uniparentální disomie apod. Tyto tzv. epigenetické změny také mohou vést k odlišné expresi některých genů a bylo prokázáno, že takový typ změn může napomáhat nebo být přímo zodpovědný za maligní transformaci buňky (Kanwal a Gupta 2010, Mitsiades a Anderson 2009, Tuna a kol 2009). V neposlední řadě integritu genomu může kromě změn v sekvenci vlastní DNA v některých případech narušit i přítomnost exogenní DNA. Jedná se zejména o DNA některých virů (př. HPV E6, EBV, Hep B, HHV8, HTLV-1 apod.), o kterých je známo, že způsobují nebo napomáhají vzniku některých nádorových onemocnění (Nicholas a kol. 2008).

Na chromosomové úrovni se míra genomové nestability nádorových buněk projevuje vznikem numerických a/nebo strukturních aberací, které lze analyzovat pomocí různých cytogenetických technik. Numerické aberace vznikají v důsledku defektů v

segregaci chromosomů během mitosy. Současné studie prokázaly řadu faktorů, které mohou vést k těmto segregacním defektům, jako jsou abnormální kinetochor-vřeténkové interakce, předčasná separace chromatid, amplifikace centrosomu, multipolární vřeténka či abnormální cytokinesa (Gollin 2005). V této souvislosti je známa i celá řada proteinů, které mají zásadní vliv na regulaci těchto procesů. Jedny z nejvýznamnějších a nejlépe prostudovaných jsou proteiny patřící do rodiny Aurora kináz. Jejich overexprese byla prokázána u mnoha nádorových onemocnění a v současné době jsou i experimentálně využívány jako možné cíle při vývoji protinádorových léčiv (Peréz Fidalgo a kol. 2009, Fu a kol. 2007).

Strukturní aberace nejčastěji vznikají jako následek dvouřetězcových zlomů DNA v důsledku chyb při kontrole buněčného cyklu, odpovědi na poškození DNA nebo ztrátě telomerické integrity. Porušení těchto mechanismů tak vede ke vzniku strukturních aberací vedoucí nebo predisponující ke vzniku různých malignit. Porušení integrity genomu a tedy vznik strukturních aberací v důsledku mutací například genů zahrnutých v odpovědi na poškození DNA je známo nejen u sporadických nádorových onemocnění, ale také u řady familiárních nádorů nebo u syndromů chromosomové nestability (Eyfjord a Bodvarsdotir 2005, Aplan 2006). Přesné mechanismy, kterými dochází ke vzniku strukturních chromosomových aberací, jsou však zatím málo známé. Ze studia nejčastějších chromosomových translokací u leukemií vyplývá, že ke zlomům může docházet ve stejných nebo odlišných oblastech příslušných genů (Zhang a Rowley 2006).

V důsledku chromosomových aberací obvykle dochází na molekulární úrovni k aktivaci protoonkogenů nebo delecii nádorových supresorových genů, které mají zásadní význam pro regulaci základních buněčných procesů jakou je proliferace, diferenciace a apoptóza a jejichž deregulace vede k nádorové transformaci buňky.

Při balancovaných chromosomových přestavbách (reciproké translokace, inverze) dochází zejména ke vzniku fúzních genů kódujících chimerický protein nebo k přemístění některého z protoonkogenů pod vliv regulačních oblastí vysoce transkripčně aktivních genů, což vede k jeho overexpresi. Řada studií prokázala, že tyto chromosomové přestavby mají zásadní význam především při vzniku nádorových onemocnění a to hned z několika důvodů: (i) jsou obvykle úzce asociovány s určitým typem maligního onemocnění, (ii) úspěšná léčba vede k vymizení daného klonu buněk s chromosomovou aberací, respektive fúzním genem, (iii) genové fúze dávají u experimentálních zvířat vznik nádorovému onemocnění stejného druhu jako u lidí s příslušnou genovou fúzí a (iv) v neposlední řadě

umlčení fúzních transkriptů in vitro vede ke zvratu tumorigenese, tedy ke snížení proliferace a/nebo diferenciace (Mitelman a kol. 2007).

K aktivaci různých protoonkogenů dochází také v důsledku zmnožení genetického materiálu, které se na chromosomové úrovni může projevit v podobě duplikace/amplifikace celého chromosomu nebo jeho části. Tento cytogenetický nálezn je další typickou změnou odrážející nestabilitu nádorového genomu. Při zmnožení genetického materiálu dochází ke zvýšení genové dávky, která způsobí nepoměr mezi genovými produkty již při několika nadbytečných kopiích genu. Častým nálezem je pak amplifikace jednotlivých protoonkogenů (př. *EGFR*, *MYC*, *RAS*, *MLL*), kterou lze obvykle detekovat na chromosomech jako tzv. homogenně se barvící oblasti (HSR-homogenously staining regions) nebo ve formě malých acentrických fragmentů, tzv. double minutes (DMs).

Ztráty genetického materiálu se v nádorových buňkách manifestují ztrátou opět buď celých chromosomů nebo jejich částí (chromosomové delecce, nebalancované translokace s parciálními delecemi). Tento typ chromosomových aberací obvykle vede ke ztrátě heterozygoty a bývá doprovázen ztrátou jednoho či více tumor supresorových genů (př. *RBI*, *TP53*, *CDKN2A (p16)*, *APC*) odpovídající Knudsonově dvou-zásahové teorii onkogeneze (Knudson 1971), kdy jedna alela daného genu je obvykle deletována a druhá je inaktivována buď delecí, mutací nebo epigenetickými změnami. Některé recentní studie poměrně překvapivě prokázaly, že v důsledku především kryptických delecí také může docházet ke vzniku fúzních genů (př. delecce 1p32 s *STIL/TALI* fúzí, delecce 4q12 (*CHIC2* genu) s *FIP1L1/PDGFR* fúzí, Heim a Mitelman 2009). Nicméně u některých maligních onemocnění s rekurentními delecemi tumor supresorové ani fúzní geny v těchto oblastech identifikovány nebyly. Jedním z možných vysvětlení tumorigeneze v těchto případech je alelická insuficience (Fodde and Smits 2002). Tuto hypotézu podporují současné nálezy monoalelicky deletovaných nebo mutovaných genů u myeloidních (Joslin a kol. 2007, Ebert a kol. 2008) i lymfoidních hematologických malignit (Mullighan a kol. 2007).

Obecně je přijímáno, že většina nádorových onemocnění vzniká v důsledku genetických a/nebo epigenetických změn především právě protein-kódujících protoonkogenů a nebo tumor supresorových genů (Croce 2008). Přesná identifikace těchto molekulárních mechanismů vedla u některých malignit i k vývoji léčebných intervencí, které jsou zaměřeny přímo na konkrétní specifickou aberaci zahrnutou v patogenezi daného onemocnění. Například u chronické myeloidní leukémie (CML) identifikace *BCR/ABL* fúzního genu, který vzniká translokací t(9;22)(q34;q11) a kóduje tyrosin kinázu

(TK) s deregulovanou aktivitou, vedla k vývoji TK inhibitorů jako je Imatinib (Glivec, Novartis), který znamenal revoluční změnu v léčbě CML. Zjištění, že epigenetické změny mohou ovlivnit expresi některých tumor supresorových genů například metylací jejich promotorů nebo modifikací histonů, které následně vedou k ztrátě jejich funkce (Jones a Bailin 2007), vyústilo ve vývoj léků zaměřených na zvrát těchto změn. K reaktivaci tumor supresorových genů, které byly umlčeny metylací jejich promotoru se tak využívá například Azacitidin (Vidaza, Celgene) a Decitabine (Dacogen, Eisai). V jiných případech se pak využívají různé histon deacetylázové inhibitory (HDAC) (Bots a Johnstone 2007).

Studium rekurentních chromosomových aberací u nádorových onemocnění vedlo k identifikaci celé škály tumor supresorových genů a protoonkogenů. V současné době je známo více jak 400 strukturních genů s významnou rolí ve vývoji nádorových onemocnění (Stratton a kol. 2009, Cancer Genome Project: www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/). Přesto u řady malignit takové geny nebo jejich abnormality, i přes intenzivní hledání, dosud identifikovány nebyly. U některých onemocnění bylo prokázáno, že za maligní fenotyp buňky jsou zodpovědné i alterace v jiných než strukturních genech. Díky detailní analýze oblastí zahrnutých do chromosomových přestaveb tak byly například identifikovány geny pro tzv. mikroRNA (miRNA). Tyto miRNA jsou negativními regulátory genové exprese, kdy vazbou na 3'UTR cílové mRNA způsobují inhibici translace a určitý stupeň její degradace (Esquela-Kerscher a Slak 2006, Calin a Croce 2006). V posledních několika letech byla u různých nádorů popsána řada miRNA s jejich přesnou chromosomovou lokalizací a příslušnými mechanismy, které vedou k jejich aberantní expresi (př. miR-15a, miR-16-1 u pacientů s CLL a delecí 13q14). Jedná se především o delecce, amplifikace či mutace postihující miRNA lokusy nebo deregulaci příslušných transkripčních faktorů či různé epigenetické změny (Croce 2009). Předpokládá se, že miRNA mohou regulovat několik stovek nebo možná až tisíc genů (Standart a Jackson 2007), do dnešní doby však byla z těchto potenciálních cílů identifikována pouze malá část. Přesto využití miRNA (případně anti-miRNA) se zatím jeví jako velmi nadějná strategie pro vývoj nových protinádorových léčiv (Croce 2009).

Všechny chromosomové aberace (včetně jejich molekulárních podstaty) lze nalézt v nádorových buňkách buď samostatně, nebo v různých kombinacích. Typické pro nestabilitu genomu nádorových buněk je právě přítomnost celé řady různých, často náhodných, chromosomových aberací a jejich kombinací, tj. přítomnost komplexních změn karyotypu. Konkrétní definice komplexních změn karyotypu se mezi jednotlivými autory

mírně liší (Breems a kol. 2008). Tradičně jsou komplexní změny charakterizovány jako aberace, které zahrnují tři a více chromosomů a/nebo změny, při kterých dochází ke třem a více zlomům na chromosomech (Schoch a kol 2001).

K analýze komplexních aberací se v současné době používá řada metod zahrnující klasickou cytogenetickou analýzu a molekulárně cytogenetické metody založené především na fluorescenční in situ hybridizaci (FISH). Velký význam pro analýzu komplexních karyotypů si získaly zejména metody, které umožňují analyzovat celý genom v jednom hybridizačním pokusu - mnohobarevná FISH (mFISH) a komparativní genomová hybridizace (CGH), a metoda mnohobarevné pruhování s vysokou rozlišovací schopností (mBAND), která umožňuje přesnou lokalizaci zlomových míst na chromosomech. V posledních letech se do rutinních provozů dostávají také různé čipové technologie (př. array CGH, SNP array), které mají vyšší senzitivitu a umožňují tak detekci submikroskopických aberací a případně i alelických imbalance. Typy používaných metod a jejich aplikace jsou uvedeny v Tabulce č. 1.

Tabulka č. 1: Přehled a srovnání cytogenetických metod využívaných pro detekci komplexních chromosomových aberací (upraveno podle Gisselsson 2009)

	Klasická cytogenetická analýza	I-FISH	mFISH	mBAND	CGH	Array CGH
přibližné rozlišení*	>5 Mb	>50 kb	>5Mb	>5Mb	>5Mb	>50kb
nutnost kultivace buněk	+	-	+	+	-	-
intracelulární heterogenita	+	+	+	+	-/+**	-/+**
balancované přestavby	+	+	+	+	-	-
aneuploidie	+	+	+	+	+	+
alelické imbalance	-	-	-	-	-	+***

*- podle Coe a kol. 2007, **- pouze pro jednobuněčné analýzy, ***- pouze SNP arrays

Komplexní změny karyotypu můžeme nalézt v nádorových buňkách u nemocných jak s hematologickými malignitami tak i solidními nádory. Často tyto aberace nacházíme již během prvního cytogenetického vyšetření při stanovení diagnózy a tedy před zahájením terapie. V tomto případě se jedná o změny, které nejsou podmíněny léčbou, ale které vznikají v průběhu maligní transformace buňky. Přestože přesný mechanismus vzniku komplexních přestaveb karyotypu není zatím zcela jasný, byl u některých nádorových onemocnění prokázán jejich klinický význam. Detailními analýzami karyotypu řada autorů

prokázala přímou korelaci mezi komplexitou karyotypu a pokročilými stádii choroby, špatnou odezvou na terapii, vyšším rizikem relapsu a celkově špatnou prognózou (Alvarez a Cigudosa 2005, Zemanová a kol 2006, Babická a kol. 2007). U některých chorob (např. MDS nebo AML) byl nález komplexního karyotypu již také zahrnut do nejnovější WHO (World Health Organization) klasifikace nádorových onemocnění a pacienti s tímto nálezem jsou řazeni do nepříznivých prognostických skupin (Swerdlow a kol. 2008). U většiny malignit však tento nález bude teprve muset být potvrzen na velkých souborech pacientů, stejně jako čeká na přesné objasnění, jaký vliv mají komplexní aberace na průběh onemocnění u pacientů s prognosticky příznivou chromosomovou změnou v karyotypu.

Kromě nezastupitelného klinického významu má analýza komplexních změn karyotypu nespornou úlohu také pro pochopení nádorové transformace buněk a důsledků nestability genomu nádorových buněk pro patogenezi choroby. Především přesná analýza rekurentních zlomových míst může vést k odhalení nových genetických mechanismů, které hrají důležitou roli v počátečních i pokročilých stádiích tumorigeneze. Velký význam tak má analýza komplexních přestaveb karyotypu pro identifikaci genů, které jsou do přestaveb zahrnuty a které mohou v budoucnu sloužit jako cíle pro terapeutickou intervenci zaměřenou přímo na zjištěné molekulární defekty.

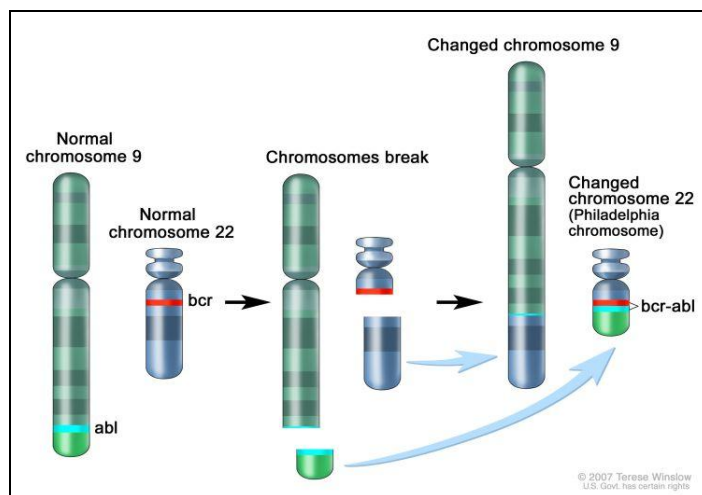
SHRnutí VÝSLEDKŮ NA ZÁKLADĚ PUBLIKAČNÍCH VÝSTUPŮ

1. Analýza komplexních přestaveb karyotypu

1.1. Chronická myeloidní leukemie

Chronická myeloidní leukemie je klonální myeloproliferativní onemocnění, které vzniká maligní transformací hematopoetické kmenové buňky a je konsistentně asociováno s *BCR/ABL* fúzním genem (Vardiman a kol. 2008, Melo a kol. 2007). CML představuje 15-20% leukémií dospělých (Hochhaus a kol. 2002) a její incidence stoupá s narůstajícím věkem. Z klinického hlediska je neléčená CML charakterizována počáteční chronickou fází (CP), po které následuje akcelerovaná fáze (AP) a finálně agresivní blastický zvrát (BP).

Cytogeneticky je CML dodnes patrně jedním z nejlépe prostudovaných maligních onemocnění. Charakteristickým nálezem je tzv. Ph chromosom, který vzniká reciprokou translokací $t(9;22)(q34;q11.2)$ a vyskytuje se u 90-95% nemocných (viz. Obrázek č. 1). U ostatních 5-10% nemocných můžeme nalézt tzv. maskovaný nebo variantní Ph chromosom (ZhaoY 2009).



Obrázek č. 1: Schematický vznik Ph chromosomu a *BCR/ABL* fúzního genu, převzato z Georgetown University Medical Center

Maskovaný Ph chromosom obvykle vzniká translokací části některého z chromosomů na dlouhá ramena Ph chromosomu. Může se tak vyskytovat u některých případech se zdánlivě normálním karyotypem jako výsledek kryptické přestavby nebo

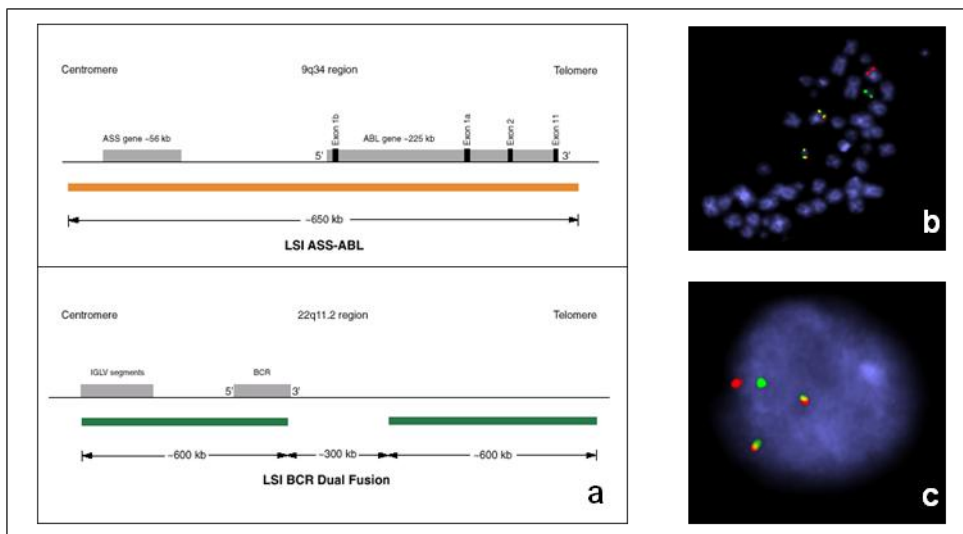
naopak u případů s komplexním karyotypem, kde klasickou translokací t(9;22)(q34;q11.2) nelze konvenční cytogenetickou analýzou detekovat (La Starza a kol. 2002). Při variantní Ph translokaci se přestavby kromě chromosomů 9 a 22 účastní ještě alespoň jeden další chromosom (Naumann a Decker 2003). Ke vzniku této aberace může docházet jednokrokovým mechanismem, během kterého dojde současně ke zlomům na chromosomech a následnému opětovnému spojení tak, že segment z dalšího chromosomu je translokován do oblasti 9q34, zatímco 22q11→22qter oblast se přemístí do zlomu na dalším chromosomu (Sessarego a kol. 2000). V některých případech může ke vzniku variantních translokací docházet také dvou- a/nebo více- krokovými mechanismy, které obvykle vedou ke složitým komplexnějším typům variantní Ph translokace (Bennour a kol. 2009).

Jako důsledek Ph translokace, ať už klasické, maskované či variantní, je na molekulární úrovni vznik *BCR/ABL* fúzního genu (viz. Obrázek č. 1), který kóduje chimerický protein se zvýšenou tyrosinkinázovou aktivitou a jeho přítomnost je nezbytná pro vznik a udržení leukemického fenotypu (Melo 1996). *BCR/ABL* fúzní gen je obvykle lokalizován na Ph chromosomu, méně často pak na jiném chromosomu zahrnutém do translokace.

Cytogeneticky lze translokaci t(9;22)(q34;q11.2) detekovat buď pomocí konvenční cytogenetické analýzy a/nebo metodou fluorescenční in situ hybridizace s komerčně dostupnými sondami, které umožňují snadnou detekci *BCR/ABL* fúzního genu u všech typů Ph translokace (tedy včetně maskované a variantní) (viz. Obrázek č. 2). Zavedení FISH do rutinního vyšetření nemocných s CML vedlo poměrně náhodou k objevení delece 5' *ABL* oblasti přiléhající k translokačnímu zlomu na derivovaném chromosomu 9 (delece der(9q)). Tato delece se vyskytuje u necelých 20% nemocných s *BCR/ABL* fúzním genem (Godley 2009) a její velikost může kolísat od 100 kb do 8Mb (Pienkowska-Grela a kol. 2009).

Ph chromosom u CML vzniká jako primární chromosomová aberace a během chronické fáze onemocnění se ve většině případů vyskytuje jako samostatná změna karyotypu. Při progresi choroby, vstupu do akcelerované fáze a blastické krize, se u 60-80% nemocných objevují nové buněčné klony, které kromě Ph chromosomu mohou nést ještě další chromosomové aberace. Tyto vznikající sekundární změny jsou nenáhodné a mezi nejčastější patří +8 (34%), nadpočetný Ph chromosom (30%), i(17q) (20%), +19 (13%), -Y u mužů (8% mužů), +21 (7%), +7 (5%) a -7 (5%) (Johansson a kol. 2002).

Kromě těchto změn se mohou v průběhu onemocnění objevit i jakékoliv jiné numerické a strukturní aberace nebo komplexní změny karyotypu.



Obrázek č. 2: Schéma DNA sondy pro detekci *BCR/ABL* fúze Vysis LSI *BCR/ABL* Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe (Abbott Molecular) (a), *BCR/ABL* pozitivní mitosa (b) a interfázni jádro (c)

Ke vzniku komplexních aberací dochází u CML poměrně zřídka a o jejich prognóze a úloze v patogenezi onemocnění toho není příliš známo. Zatím se zdá, že se jedná spíše o náhodné změny, které odráží celkovou genomovou nestabilitu. Většina dříve publikovaných údajů však byla získána pouze na základě klasické cytogenetické analýzy.

Analyzovali jsme proto komplexní změny karyotypu u nemocných s CML vyšetřených na našem pracovišti pomocí molekulárně cytogenetických metod: I-FISH, mFISH a mBAND. Zaměřili jsme se především na chromosomy a konkrétní chromosomové oblasti, které nejčastěji vstupují do komplexních přestaveb, a také nás zajímalo, zda se některé z přestaveb nevyskytují u více pacientů a nemůže se tedy jednat o rekurentní aberace.

V letech 2000-2005 jsme v Centru nádorové cytogenetiky vyšetřili více jak 200 dospělých nemocných s diagnózou chronické myeloidní leukemie. Na základě klasické cytogenetické analýzy jsme prokázali komplexní změny karyotypu u 18 z nich (9 mužů a 9 žen). Tyto aberace jsme následně detailně analyzovali pomocí molekulárně cytogenetických metod.

Pomocí klasické cytogenetické analýzy jsme prokázali u všech nemocných buď klasickou anebo variantní Ph translokaci. *BCR/ABL* fúzi jsme potvrdili pomocí FISH a ve

spolupráci s kolegy z laboratoře molekulární genetiky ÚHKT (Ústav hematologie a krevní transfúze) jsme pomocí RT-PCR určili i konkrétní typ *BCR/ABL* transkriptu.

Nemocné jsme rozdělili do dvou skupin. Jednu skupinu tvořilo osm pacientů, u kterých jsme detekovali variantní Ph translokaci. Ve druhé skupině bylo deset nemocných, kteří měli klasickou Ph translokaci a další chromosomové aberace.

Ve skupině s variantní Ph translokací jsme kromě klasického schématu vzniku Ph translokace prokázali u 3 nemocných odlišné komplexnější typy variantních přestaveb. U jednoho pacienta jsme navíc našli *BCR/ABL* fúzi na chromosomu 9. U nemocných s klasickou Ph translokací jsme detekovali v karyotypu různé další strukturní i numerické chromosomové aberace. Za významný považujeme především nález u dvou pacientů, u kterých jsme na základě klasické cytogenetické analýzy předpokládali v karyotypu přítomnost isochromosomu pro dlouhá ramena chromosomu 17, a tedy specifické sekundární změny. Při vyšetření metodou mFISH se však ukázalo, že ve skutečnosti se jedná o derivovaný chromosom 17, na který byla translokována část jiného chromosomu. Přestože jsme u našich nemocných nenalezli žádnou opakující se strukturní aberaci, i v tak malém souboru jsme prokázali, že některé chromosomy vstupují do komplexních přestaveb častěji než jiné. Nejčastěji byly do komplexních aberací zahrnuty chromosomy 2 (6x), 3, 7 a 17 (5x), 1 a 4 (4x) a 5, 6, 11 a 12 (3x), a to především oblasti 1p, 2p, 5q, 7p a 17p. Opakující se zlomová místa byla nalezena v oblastech 17p11.2 (3x) a 7p15 (2x) (**Příloha č. 1:** Babická a kol. 2006a).

Původní soubor nemocných jsme následně rozšířili o další čtyři pacienty (celkem tedy 22 nemocných), dva s variantní a dva s klasickou Ph translokací a dalšími chromosomovými aberacemi (**Příloha č. 2:** Babická a kol. 2006b). Z klinického hlediska byly komplexní přestavby karyotypu asociovány se špatnou odpovědí na léčbu a celkově špatnou prognózou. V době analýzy došlo u jedenácti pacientů k progresi onemocnění z chronické do akcelerované fáze a/nebo blastické krize, celkem dvanáct pacientů zemřelo. V současné době soubor nemocných stále sledujeme a přidáváme nové případy. Předpokládáme, že po rozšíření vyšetřovaného souboru nemocných budeme schopni i statisticky vyhodnotit nejen nenáhodnost a frekvenci jednotlivých aberací ale také vliv komplexních přestaveb na přežití nemocných.

ZÁVĚR - CÍL 1.1.:

Provedli jsme cytogenetickou a molekulárně cytogenetickou analýzu buněk kostní dřeně u 22 nemocných s CML a komplexními přestavbami karyotypu vyšetřených na

našem pracovišti v letech 2000-2006. Nenalezli jsme žádnou opakující se chromosomovou aberaci, určili jsme však chromosomy a konkrétní zlomová místa, která byla do přestaveb zahrnuta častěji než jiná. Nejčastěji do komplexních přestaveb vstupovaly chromosomy 2, 3, 7 a 17 a opakující se zlomová místa byla nalezena v oblastech 17p11.2 a 7p15. Klinicky byly komplexní změny karyotypu v našem souboru nemocných asociovány se špatnou odpovědí na léčbu a celkově špatnou prognózou onemocnění.

1.2. Myelodysplastické syndromy

Myelodysplastické syndromy (MDS) jsou heterogenní skupina klonálních onemocnění kostní dřeně charakterizovaná morfoloogickou dysplázií hematopoetických buněk doprovázenou cytopenií v periférii a vysokým rizikem progresu do akutní myeloidní leukemie (AML) (Vardiman 2003, Cazzola a Malcovati 2005). Incidence MDS stoupá s věkem, více než 85% nemocných je starších 60 let a je častější u mužů než u žen (Ma a kol. 2007). Většina případů vzniká de novo z neznámých příčin (Strom a kol. 2008), přibližně 10-15% MDS vzniká sekundárně v důsledku léčby pro jiná maligní nebo benigní onemocnění (tzv. therapy-related MDS; t-MDS) (Godley a Larson 2002).

Dle současné WHO klasifikace se MDS rozdělují na jednotlivé subtypy především na základě histologie kostní dřeně, počtu blastů v periférii i kostní dřeni a cytogenetického vyšetření (viz. Tabulka č. 2). Přestože dysplázie kostní dřeně je základním znakem MDS, může být přítomna také u jiných klinických stavů, jako jsou nutriční deficity (př. vitamínu B12), infekce nebo kongenitální poruchy kostní dřeně. V diferenciální diagnóze tak stojí řada dalších onemocnění, které je v některých případech velmi těžké odlišit. Jeden ze základních kroků pro stanovení diagnózy MDS je tak průkaz klonality abnormálních buněk. Stanovení klonálních změn karyotypu nádorových buněk u nemocných s MDS je proto v současnosti pro stanovení diagnózy onemocnění naprosto nezbytné a stejně tak patří i k monitorování nemocných v průběhu léčby.

Rekurentní cytogenetické aberace nacházíme v době diagnózy přibližně u 40-70% dospělých nemocných s primárním MDS a až u 95% pacientů s t-MDS (Haase 2008). Nejčastěji se setkáváme s nebalancovanými přestavbami zahrnujícími ztrátu celých chromosomů nebo jejich částí, nebalancovanými translokacemi a komplexně přestavěnými chromosomy (Olney a Beau 2009). K vůbec nejčastějším cytogenetickým nálezům u MDS patří delece dlouhých ramen chromosomu 5 (del(5q)), která je popisována u přibližně 30%

primárních a až 50% t-MDS. Kromě delece 5q patří k častým nálezům také monosomie chromosomu 7 (-7) nebo delece jeho dlouhých ramen (del(7q)), trisomie chromosomu 8 (+8) anebo delece dlouhých ramen chromosomu 20 (del(20q)). Většina z těchto chromosomových aberací má jasný prognostický význam, který je uveden v Tabulce č. 3. Frekvence cytogenetických změn se stejně jako riziko leukemické transformace zvyšuje se závažností onemocnění. Frekvence cytogenetických aberací u jednotlivých subtypů MDS je shrnuta v Tabulce č. 2.

Tabulka č. 2: WHO klasifikace MDS a frekvence cytogenetických aberací u jednotlivých subtypů MDS. Převzato z Olney a Le Beau 2008 a Brunning a kol. 2008.

Subtyp	Blsaty v KD	Klinická manifestace	% cytogenetických aberací
RA (refractory anemia)	<5%	Anemie	25%
RARS (RA with ring sideroblasts)	<5%	Anemie, $\geq 15\%$ erytroidních prekurzorů věčité sidereroblasty	10%
RCMD (refractory cytopenia with multilineage dysplasia)	<5%	Bi-, pancytopenie, $\pm 15\%$ erytroidních prekurzorů věčité sidereroblasty	50%
RAEB-1 (RA with excess blasts-1)	5-9%	Cytopenie	50-70%
RAEB-2 (RA with excess blasts-2)	10-20%	Cytopenie	50-70%
MDS-U (MDS-unclassified)	<5%	Neutropenie nebo trombocytopenie	50%
MDS associated with del(5q)	<5%	Anemie	100%

Tabulka č. 3: Prognostický význam nejčastějších chromosomových aberací u MDS podle IPSS (International Prognostic Scoring System), Greenberg a kol. 1997

Prognóza	Chromosomová aberace	25% AML progrese	Medián přežití
Dobrá	normální karyotyp, samostatná del(5q), samostatná del(20q), samostaná -Y	5,6 let	3,8 let
Střední	ostatní aberace	1,6 let	2,4 let
Špatná	-7/del(7q), komplexní změny karyotypu	0,9 let	0,8 let

V letech 2007-2009 jsme na našem pracovišti v rámci grantového projektu provedli retrospektivní a prospektivní studii zaměřenou na komplexní změny karyotypu u nemocných s MDS. Dílčí výsledky jsme prezentovali na zahraničních konferencích

(Příloha č. 3: Zemanová a kol. 2009a, **Příloha č. 4:** Zemanová a kol. 2009b, **Příloha č. 5:** Zemanová a kol. 2009c). Konečná studie zahrnovala soubor 88 nemocných s komplexními změnami karyotypu, které jsme analyzovali molekulárně cytogenetickými metodami. Soubor nemocných tvořilo 46 mužů a 42 žen s mediánem věku při diagnóze 64,5 let (rozmezí 22-83). 74 z těchto pacientů mělo primární MDS, 14 nemocných mělo t-MDS. V současné době žije v celém souboru pouze 6 nemocných, všichni po transplantaci kostní dřeně.

Komplexní karyotyp jsme v této studii definovali, stejně jako u většiny ostatních souborů, jako numerické a strukturní změny, které zahrnovaly tři a více chromosomů a/nebo strukturní aberace při kterých docházelo ke třem a více zlomům na chromosomech. Přičemž balancované reciproké translokace a inserce, zisk nebo ztrátu celého chromosomu a ring chromosomy tvořené materiálem z jednoho chromosomu jsme počítali jako jednu změnu. Nebalancované přestavby vedoucí k imbalancím dvou a více chromosomů a invertované duplikace byly počítány jako dvě nebo více změn (podle počtu zahrnutých chromosomů).

Komplexní aberace jsme analyzovali metodami molekulární cytogenetiky (FISH mFISH, mBAND, arrayCGH a SNP array) (příklad viz. Obrázek č. 3 a č. 4). Z numerických odchylek převládaly ztráty celých chromosomů (monosomie) nad jejich zmnožením (trisomie/tetrasomie). Nejčastěji jsme detekovali monosomie chromosomů 7 (25x), 18 (10x), 17 (9x), 21 (9x) a 3 (8x). Nenalezli jsme žádnou kryptickou rekurentní balancovanou aberaci, přesto zahrnutí jednotlivých chromosomů v komplexních přestavbách bylo nenáhodné. Nejčastěji jsme detekovali delecí dlouhých ramen chromosomu 5 (79x). Dále vstupovaly do strukturních přestaveb nejčastěji chromosomy 7 (59x), 3 (46x), 17 (46x), 12 (44x), 11 (29x) a 21 (26x). Ke zlomům nejčastěji docházelo v oblastech 5q33 (31x), 5q31 (25x), 12p11 (7x), 7p11 (6x) a 7q11 (7x).

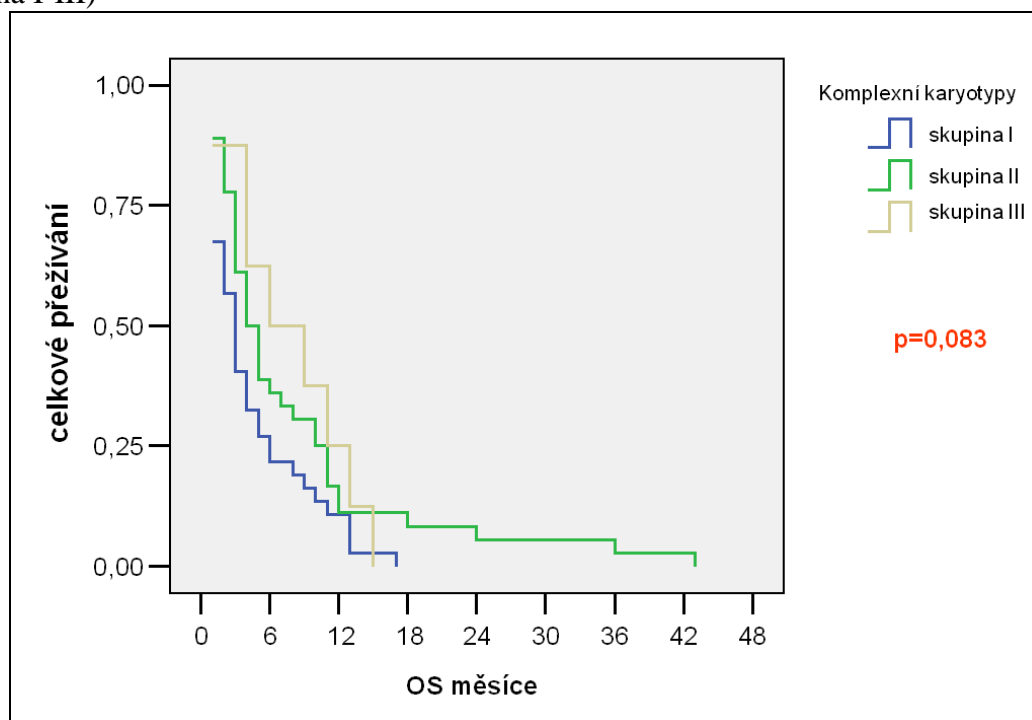
U nemocných s delecí 5q jsme prokázali, že deletovaný chromosom 5 byl velmi nestabilní a často vstupoval do dalších nebalancovaných přestaveb s různými chromosomy. Nejčastějšími partnery chromosomu 5 v nebalancovaných přestavbách byly chromosomy 17 (11x), 3 (7x), 7 (7x) a 12 (6x). Čistou monosomii chromosomu 5 jsme nenalezli u žádného pacienta. Ve všech případech se suspektní monosomií 5 jsme prokázali, že části materiálu tohoto chromosomu zůstaly zachovány a byly inzertovány v jiných částech genomu. Proto předpokládáme, že monosomie 5 jako samostatná cytogenetická jednotka u tohoto onemocnění vůbec neexistuje.

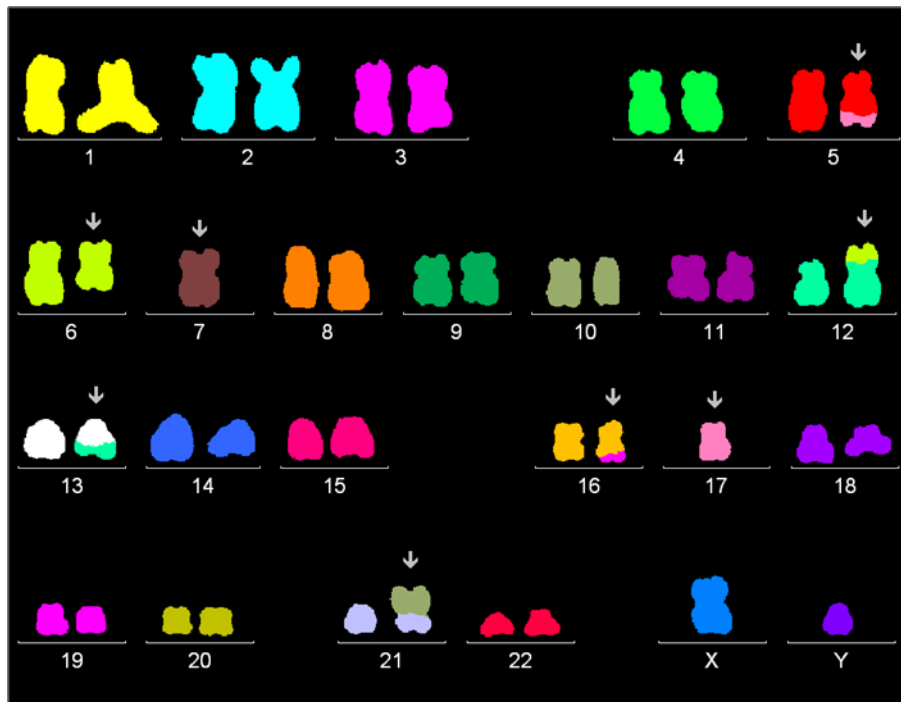
Komplexní změny karyotypu byly v celém našem souboru nemocných asociovány se špatnou odpovědí na léčbu a krátkou dobou přežití (medián OS v celé skupině nemocných 4 měsíce). Pro detailní analýzu prognostického významu komplexních aberací jsme nemocné na základě molekulárně cytogenetických výsledků rozdělili do tří skupin: nemocní s deletovaným chromosomem 5 jako součástí komplexních přestaveb (skupina I), nemocní s delecí 5q a dalšími komplexními aberacemi (skupina II) a nemocní s komplexními změnami karyotypu bez delecce 5q (skupina III), viz. Tabulka č. 4. Nejkratší celkové přežití (OS) jsme prokázali u skupiny I (medián OS 3 měsíce), následované skupinou II (medián OS 4 měsíce) a skupinou III (medián OS 6 měsíců). Odlišný trend v přežívání v jednotlivých skupinách jsme pozorovali i při statistické analýze (viz. Graf č. 1). Výsledky jsou v současné době připravovány k publikaci v zahraničním písemnictví.

Tabulka č. 4: Rozdělení nemocných s MDS do skupin podle molekulárně cytogenetických nálezů a jejich celkové přežití

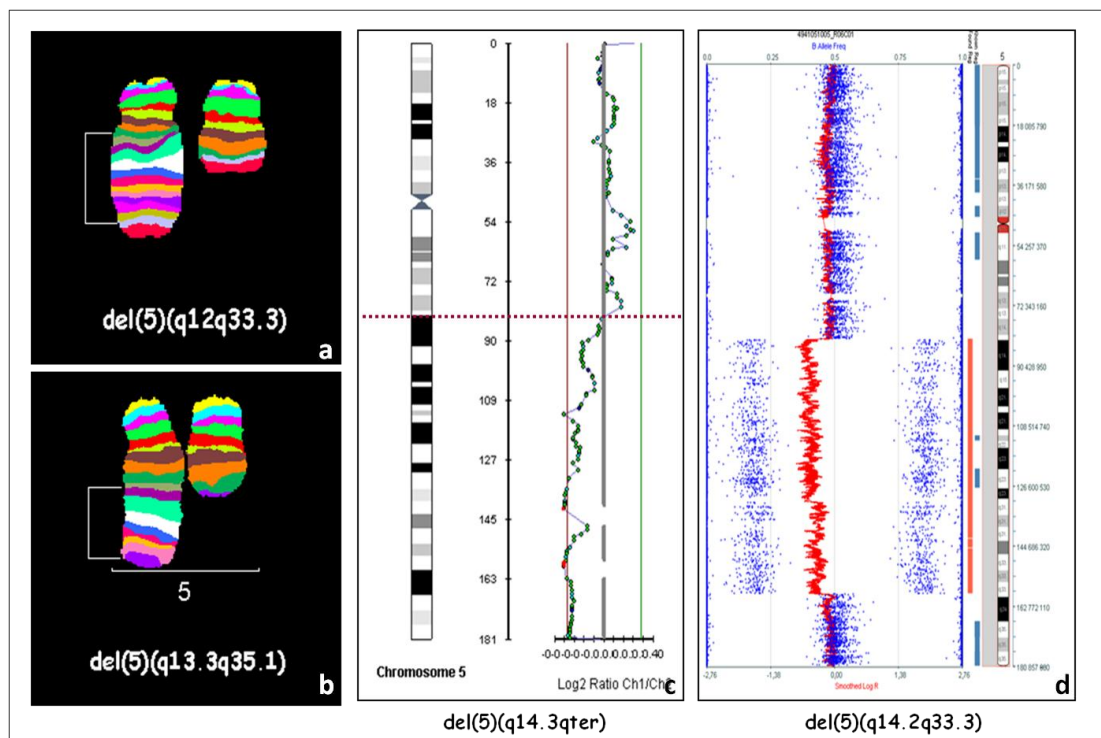
skupina	Aberace	Počet nemocných	Medián OS (m)
I	del(5q) jako součást komplexních aberací	40	3
II	del(5q) plus další komplexní aberace	39	4
III	komplexní aberace bez del(5q)	9	6

Graf č. 1: Celkové přežívání pacientů s MDS v závislosti na cytogenetickém nálezů (skupina I-III)





Obrázek č. 3: Analýza komplexních přestaveb karyotypu u pacienta s MDS (skupina I) metodou mFISH (MetaSystems): 44,XY,der(5)t(5;17)(q23;q12),del(6)(q23),-7, der(12)t(6;12)(q23;p12),der(13)t(12;13)(?;q31),der(16)t(16;19)(q21;?)-17, der(21)t(10;21)(q?;p11.1)



Obrázek č. 4: Analýza rozsahů delecí chromosomu 5 u pacientů s MDS metodami mBAND (MetaSystems) (a,b), arrayCGH (BlueGnome) (c) a SNP array (Illumina) (d)

ZÁVĚR - CÍL 1.2.:

Pomocí metod molekulární cytogenetiky (FISH, mFISH, mBAND a arrayCGH) jsme analyzovali komplexní změny karyotypu u 88 nemocných s MDS vyšetřených na našem pracovišti v letech 2007-2009. Prokázali jsme, že nejčastěji byl do komplexních aberací zahrnut deletovaný chromosom 5, který byl zároveň velmi nestabilní a vstupoval do nebalancovaných přestaveb s řadou různých chromosomů. V našem souboru jsme u žádného pacienta neprokázali monosomii chromosomu 5 a předpokládáme tak, že tato aberace jako samostatná cytogenetická jednotka u nemocných s MDS neexistuje. Z ostatních chromosomů byly do přestaveb zahrnuty nejčastěji chromosomy 7, 3, 17, 12, 11 a 21. Nejčastější zlomová místa jsme detekovali v oblastech 5q33, 5q31, 12p11, 7p11 a 7q11. Z prognostického hlediska byly komplexní změny karyotypu provázeny špatnou odpovědí na léčbu a krátkou dobou přežití (medián OS v celé skupině nemocných 4 měsíce).

1.3. Akutní myeloidní leukémie

Akutní myeloidní leukemie je heterogenní skupina maligních onemocnění krvetvorby, pro kterou je charakteristické, že v kostní dřeni jsou normální buňky nahrazeny nezralými myeloidními buňkami, tzv. myeloblasty. Onemocnění se vyznačuje zpravidla prudkým nástupem a agresivním průběhem. AML je diagnostikována u osob všech věkových kategorií, nejčastěji však postihuje osoby starší 60 let. U řady nemocných vzniká AML sekundárně transformací z myelodysplastického syndromu (MDS) nebo po léčbě pro jiná nádorová onemocnění (Weinblatt a kol. 2004).

Jednotlivé subtypy AML lze klasifikovat podle různých kritérií. Tradičně je podle FAB klasifikace (The French-British-American classification; Benett a kol., 1976) AML rozdělována na základě převládající diference a stupně vyzrání myeloidních buněk do několika skupin označovaných M0 až M7. Současná WHO klasifikace kromě morfologických nálezů zohledňuje i další faktory, jako jsou genetické a cytogenetické nálezy, imunofenotypizace, biologické a klinické prvky a na jejich základě je AML rozdělována do čtyř základních skupin a dalších podskupin (Vardiman a kol. 2002, Arber a kol. 2008).

Cytogenetická analýza je v současné době nezbytnou součástí základního laboratorního vyšetření nemocných s AML. Karyotyp leukemických buněk napomáhá nejen k určení diagnózy, ale je také jedním z nejdůležitějších prognostických faktorů a

bylo prokázáno, že je nezávislým prediktorem odpovědi na léčbu, délky trvání remise a celkového přežití (Mrózek a kol. 2001).

Chromosomové aberace nalézáme u 55-75% nově diagnostikovaných dospělých pacientů s AML (Lindvall a kol. 2004). Řada z těchto přestaveb představuje specifické chromosomové aberace asociované s určitým subtypem leukemie, charakteristickým morfologickým a imunologickým profilem, odezvou na léčbu a prognózou nemocného. Podle cytogenetického nálezu mohou být pacienti s AML klasifikováni do tří rizikových skupin, které se liší v prognóze onemocnění. Nejčastější chromosomové aberace včetně jejich prognostického významu jsou uvedeny v tabulce č. 5. Komplexní změny karyotypu, které nacházíme při diagnóze u 10-15% nemocných (Alvarez a Cigudosa 2005) jsou asociovány se špatnou prognózou.

Tabulka č. 5: Prognostický význam nejčastějších chromosomových aberací u AML

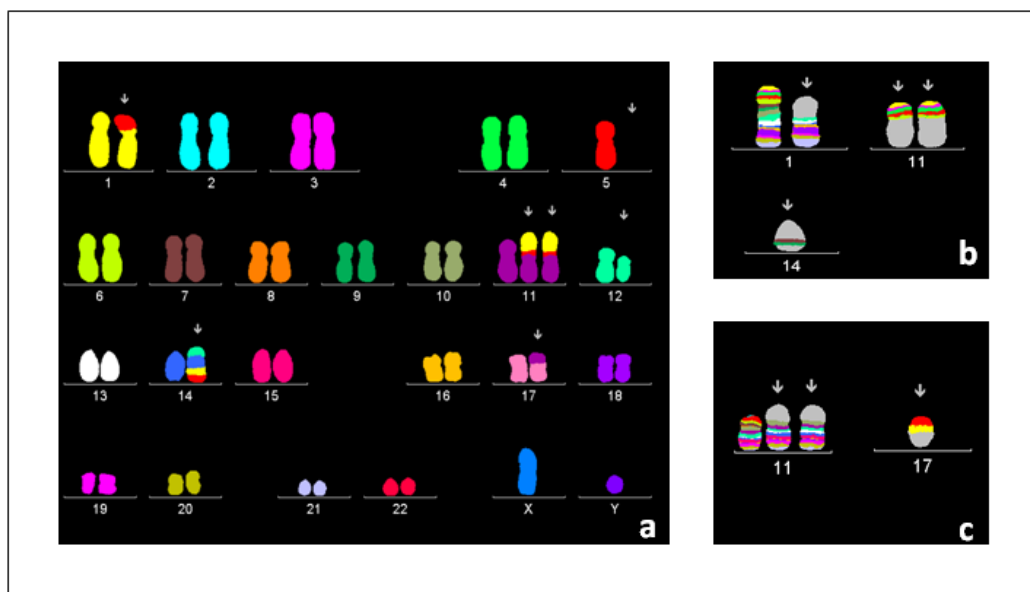
Prognóza	Chromosomová aberace
Dobrá	t(8;21)(q22;q22), t(15;17)(q22;q21) inv(16)(p13q22),
Střední	normální karyotyp, +8, del(9q), -Y, +21, +22
Špatná	inv(3)(q21q26), del(5q), -7/del(7q), t(9;22)(q34;q11), t(4;11)(q21;q23), t(5;11)(q35;p15), t(10;12)(p12;q14), 10p12/11q23 přestavba, t(11;20)(p15;q12), t(11;19)(q23;p13.1), komplexní změny karyotypu

V retrospektivní studii jsme v letech 1998-2004 na našem pracovišti analyzovali komplexní změny karyotypu u dospělých nemocných s diagnózou AML a MDS RAEB-t (MDS RAEB-t je podle WHO klasifikace již řazen do AML). Z celkového počtu 311 pacientů s AML (včetně MDS RAEB-t) jsme komplexní změny karyotypu v době diagnózy našli u 37 z nich (11,9%), jednalo se o 17 mužů a 20 žen. Komplexní aberace jsme podrobně analyzovali metodami molekulární cytogenetiky (příklad viz. Obrázek č. 5)

Ve většině případů jsme našli nebalancované strukturní přestavby vedoucí ke ztrátě či amplifikaci chromosomového materiálu. U 30 nemocných (81,1%) jsme detekovali ztrátu nebo přestavbu chromosomů 5, 7 a/nebo 11. Deleci oblastí 5q31 a 7q31 jsme prokázali u 18 (60%), respektive 7 (23,3%) nemocných. Aberaci MLL genu jsme detekovali u 6 pacientů (16,2%). Trisomii chromosomu 8 jako nejčastější početní změnu jsme potvrdili u 6 nemocných (16,2%). Z dalších chromosomových přestaveb jsme u dvou pacientů našli nebalancovanou translokaci der(13)t(8;13)(q11.2;p11.2) spojenou s delecí krátkých ramen chromosomu 8 - del(8)(p11.2) a u jiných dvou nemocných jsme v karyotypu prokázali isochromosom pro dlouhá ramena chromosomu 8 - i(8)(q10).

Ostatní chromosomové aberace se vyskytovaly vždy jen jednou u jednotlivých pacientů. Chromosomové oblasti, které nejčastěji vstupovaly do komplexních přestaveb byly 5q, 7q, 11q, 10p, 12p a 17p. Rekurentní zlomová místa jsme detekovali v oblastech: 5q33 (12x), 5q13 (8x), 5q12 (5x), 7q31(4x), 11q23 (6x), 10p12 (4x), 12p13 (7x) a 17p11.2 (7x) (**Příloha č. 6:** Babická a kol. 2007a).

Soubor nemocných s AML a komplexními změnami karyotypu jsme v následujících letech dále rozšiřovali. Za období 1998-2006 jsme tak analyzovali komplexní přestavby u 57 nemocných. S narůstajícím počtem pacientů se chromosomy a chromosomové oblasti zahrnuté v komplexních aberacích výrazně neměnily. Stále byly nejčastěji do přestaveb zahrnuty chromosomy 5, 7 a/nebo 11 (86%) s odpovídajícími chromosomovými zlomy. Potvrdili jsme velmi špatnou prognózu nemocných s komplexními změnami karyotypu. Medián celkového přežití (OS) pacientů byly 3 měsíce a jen tři pacienti v době vyhodnocení studie žili (jeden po transplantaci kostní dřeně, jeden v částečné a jeden v kompletní remisi) (**Příloha č. 7:** Babická a kol. 2007b).



Obrázek č. 5: Analýza komplexních přestaveb karyotypu u pacienta s AML metodou mFISH (MetaSystems) (**a**) a metodou mBAND (MetaSystems) se sondami pro chromosom 1 (**b**) a chromosom 11 (**c**):

46,XY,der(1)t(1;5)(p21;p12),-5,der(11)t(5;11)(q12;p12)t(1;5)(p31;q13)x2,del(12)(p12),der(14)t(12;14)(p12;p11.2)t(1;14)(p21;q24)t(1;5)(p31;q35),der(17)t(11;17)(p14;p11.2)

V rámci analýzy komplexních změn karyotypu jsme sledovali také skupinu nemocných s přestavbami chromosomu 7. Strukturní aberace (translokace nebo kryptické delece) chromosomu 7 jsme analyzovali celkem u 33 nemocných s AML a MDS. Konvenční cytogenetickou analýzou jsme u 7 nemocných detekovali deleci 7q, u dalších 25 jsme našli translokace zahrnující chromosom 7. Komplexní změny karyotypu jsme prokázali metodou mFISH u 29 pacientů, a potvrdili tak, že chromosom 7 je jedním z chromosomů nejčastěji vstupujících do komplexních přestaveb u myeloidních onemocnění. K analýze rozsahu delecí jsme použili lokus specifické sondy pro oblasti 7q22, 7q31 a 7q35 a metodu mBAND. Zlomová místa na chromosomu 7 byla značně heterogenní a většina nalezených aberací představovala kryptické delece, které nebylo možné detekovat klasickou cytogenetickou analýzou. Na dlouhých ramenech byly nejčastěji deletovány oblasti 7q31 a 7q35, na krátkých pak byla nejčastěji deletována oblast 7p13.2 až 7p15.2. Nález aberací chromosomu 7 byl v našem souboru nemocných spojen s velmi špatnou prognózou (**Příloha č. 8:** Březinová a kol. 2007).

Metodami klasické a molekulární cytogenetiky jsme podrobně analyzovali také různé formy duplikace/amplifikace chromosomu 11 u 10 nemocných (ze 119) s nově diagnostikovanou AML. Určili jsme, že se jedná o rekurentní nenáhodnou aberaci asociovanou s tímto onemocněním (8,4% případů). Potvrdili jsme, že zmnoženy bývají častěji oblasti na dlouhých ramenech chromosomu 11 (koamplifikaci krátkých ramen jsme prokázali pouze u dvou nemocných) a konkrétní forma duplikace/amplifikace je značně heterogenní. V našem souboru jsme našli amplifikaci 5'konce MLL genu (1x), trisomii chromosomu 11 (3x), parciální trisomii 11q (2x), isochromosom (1x) a různé mnohočetné amplifikace specifických oblastí (3x). Duplikace/amplifikace 11q se vyskytovaly u osmi nemocných jako součást komplexního karyotypu a byly nenáhodně asociovány s abnormalitami chromosomů 5 (5x), 7 (5x) a 17(5x). Z klinického hlediska jsme potvrdili, že jsou tyto aberace detekovány především u starších nemocných a jsou doprovázeny velmi rychlou progresí onemocnění. Na rozdíl od většiny dosud publikovaných studií, jsme amplifikaci 11q prokázali především u de novo AML (9 z 10 pacientů) (**Příloha č. 9:** Šárová a kol. 2010).

ZÁVĚR – CÍL 1.3.:

V rámci retrospektivní studie jsme analyzovali cytogenetickými a molekulárně cytogenetickými metodami komplexní změny karyotypu u celkem 57 nemocných s akutní myeloidní leukemií. Prokázali jsme, že komplexní změny karyotypu představují především nebalancované chromosomové aberace vedoucí ke ztrátám či zmnožení stejných chromosomových oblastí, zejména 5q, 7q a 11q (86% nemocných). Detekovali jsme další chromosomové oblasti vstupující často do komplexních přestaveb (10p, 12p, 17p) a určili jsme rekurentní zlomová místa v oblastech 5q33, 5q13, 5q12, 7q31, 11q23, 10p12, 12p13 a 17p11.2. Potvrdili jsme, že z klinického hlediska je přítomnost komplexních aberací v době diagnózy velmi nepříznivým prognostickým faktorem (medián OS 3 měsíce).

2. Analýza komplexních přestaveb karyotypu u nemocných s prognosticky příznivou chromosomovou aberací

2.1. Akutní lymfoblastická leukemie

Akutní lymfoblastická leukémie je nejčastějším nádorovým onemocněním dětského věku a představuje asi 80% všech dětských leukemií. V České republice touto chorobou ročně onemocní 60-70 dětí (incidence se udává 2,5-3,5 nových případů na 100 000 dětí do 15 let) a o něco častěji se vyskytuje u chlapců než dívek (poměr 1,3:1). ALL je charakterizována akumulací maligních nezralých lymfoidních buněk v kostní dřeni a ve většině případů i v periferní krvi. Postiženy mohou být buňky B- i T-řady. Nejčastěji vzniká leukemie z nezralých prekurzorů B-lymfocytů (BCP-ALL: B-cell precursor ALL) (Harrison a Johanson 2009). Přesná příčina vzniku dětské ALL zatím není zcela známa (Rubnitz 2005, Starý 2002), řada autorů však prokázala, že ke vzniku leukémie dochází již prenatalně během intrauterinního vývoje. (Gale a kol. 1997, Wiemels a kol. 1999, Maia a kol. 2003, Zuna a kol. 2003, Broadfield 2004).

Dětská akutní lymfoblastická leukemie je heterogenní onemocnění, jehož jednotlivé formy se liší klinickými příznaky, genotypem, morfologickým a imunologickým profilem, odezvou na léčbu a prognózou onemocnění. Diagnostika ALL se opírá o řadu laboratorních metod, mezi nimiž má cytogenetické vyšetření nezastupitelnou úlohu a karyotyp leukemických buněk je jedním z nejdůležitějších prognostických faktorů.

Cytogenetické studie rozsáhlých souborů dětí s ALL prokázaly v leukemických blastech u více jak 90% z nich výskyt nenáhodných chromosomových aberací, které korelují s imunofenotypickým, klinickým i hematologickým obrazem a mají jasný diagnostický a prognostický význam (Harrison a kol. 2005). Stejně jako u jiných nádorových onemocnění se můžeme setkat jak s odchylkami v modálním počtu chromosomů, tak se strukturními aberacemi. Z prognostického hlediska patří k nejdůležitějším nálezům translokace $t(9;22)(q34;q11)$, strukturní přestavby 11q23 a hypodiploidie (23-29 chromosomů), které jsou asociovány s velmi špatnou prognózou a dále nález translokace $t(12;21)(p13;q22)$ nebo vysoce hyperdiploidních buněk (>50 chromosomů), které jsou naopak považovány za příznivý prognostický faktor.

Ve spolupráci s Klinikou dětské hematologie a onkologie ve Fakultní nemocnici Motol se na našem pracovišti zabýváme cytogenetickou a molekulárně cytogenetickou diagnostikou dětských ALL. Vyšetřujeme karyotypy u všech nově diagnostikovaných dětí s touto diagnózou, které dále sledujeme i v průběhu onemocnění a po léčbě. Zaměřujeme

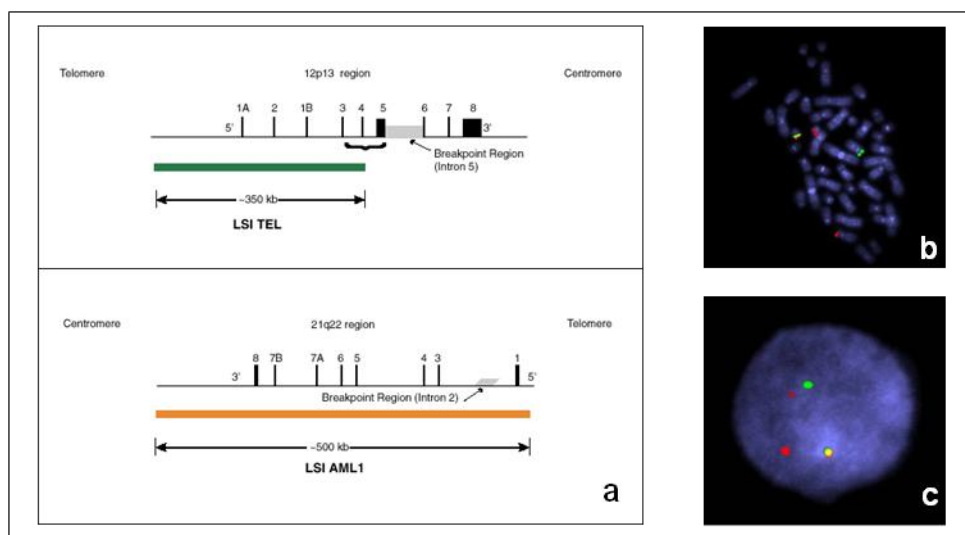
se především na záchyt specifických prognosticky nejvýznamnějších chromosomových aberací: hyperdiploidie/hypodiploidie, translokací $t(12;21)(p13;q22)$ a $t(9;22)(q34;q11)$ a přestaveb MLL genu (**Příloha č. 10:** Babická a kol. 2006c).

Translokace $t(12;21)(p13;q22)$, při které dochází na chromosomu 21 ke vzniku fúzního genu *TEL/AML1* (nyní označovaného *ETV6/RUNX1*), je nejčastější specifickou strukturní chromosomovou aberací u dětských ALL a lze ji detekovat u 20-30% dětí (Alvarez a kol. 2004). Při translokaci dochází k přestavbě velmi malých chromosomových úseků, a proto ji ve většině případů nelze detekovat klasickou cytogenetickou analýzou. K průkazu *TEL/AML1* fúzního genu se proto využívá především molekulárně cytogenetických a molekulárně genetických metod. Je velmi pravděpodobné, že k jejímu vzniku dochází již během prenatalního vývoje plodu a k rozvoji leukemie je pak nutná ještě další sekundární genetická událost, která vzniká postnatálně (McHale a kol., 2003, Zuna a kol., 2004).

Přítomnost fúzního genu *TEL/AML1* je obecně považována za příznivý prognostický faktor (Borowitz a Chan 2008). Přesto i u dětí s prokázanou *TEL/AML1* fúzí může docházet k pozdním relapsům, jejichž příčina zatím není zcela jasná (Forestier a kol. 2008). Jednou z příčin by mohla být nestabilita genomu *TEL/AML1* pozitivních leukemických buněk, která se u některých pacientů projevuje vznikem sekundárních strukturních či numerických chromosomových aberací. Přítomnost dalších chromosomových aberací byla prokázána u 50-70% *TEL/AML1* pozitivních pacientů a mezi nejčastější patří delece krátkých ramen netranslokovaného chromosomu 12 (a tedy delece nealterované TEL alely), trisomie či tetrasomie chromosomu 21 nebo duplikace derivovaného chromosomu 21 s *TEL/AML1* fúzí (Attarbaschi 2004). Kromě uvedených aberací se můžeme v karyotypu leukemických buněk u nemocných s *TEL/AML1* fúzí setkat i s dalšími, často velmi složitými komplexními změnami.

Frekvenci a vliv komplexních změn karyotypu na prognózu dětských pacientů s ALL a *TEL/AML1* fúzním genem jsme analyzovali v retrospektivní a prospektivní studii ve spolupráci s ostatními cytogenetickými laboratořemi a klinickými pracovišti v České republice a laboratoři molekulární genetiky CLIP (Childhood leukaemia investigation Prague). V prvotních studiích jsme nejprve analyzovali komplexní změny karyotypu u 87 (**Příloha č. 11:** Babická a kol. 2005) a následně u 107 dětí (**Příloha č. 12:** Zemanová a kol. 2006a).

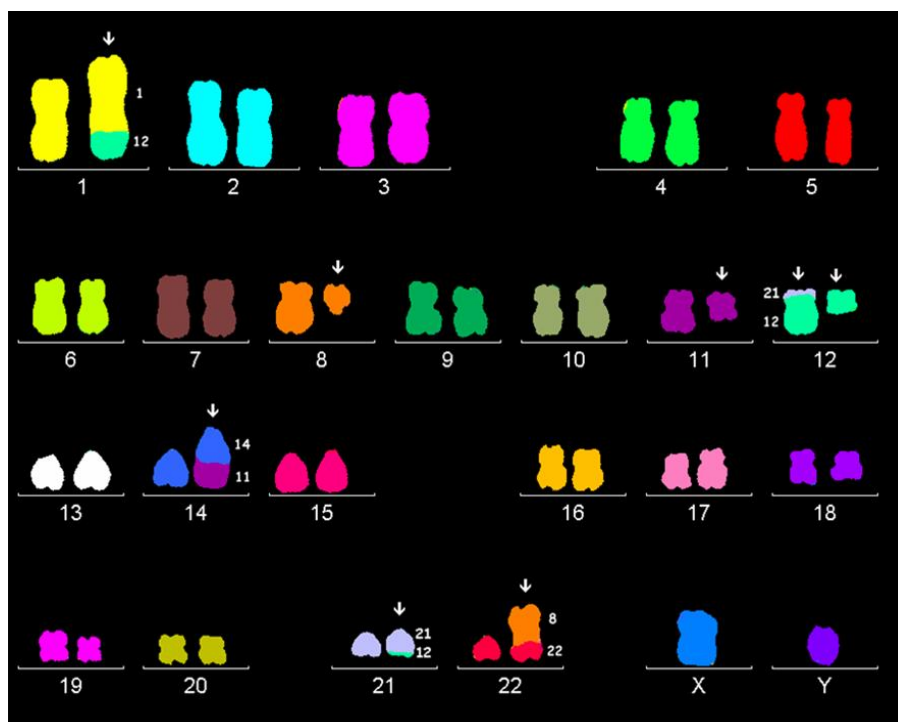
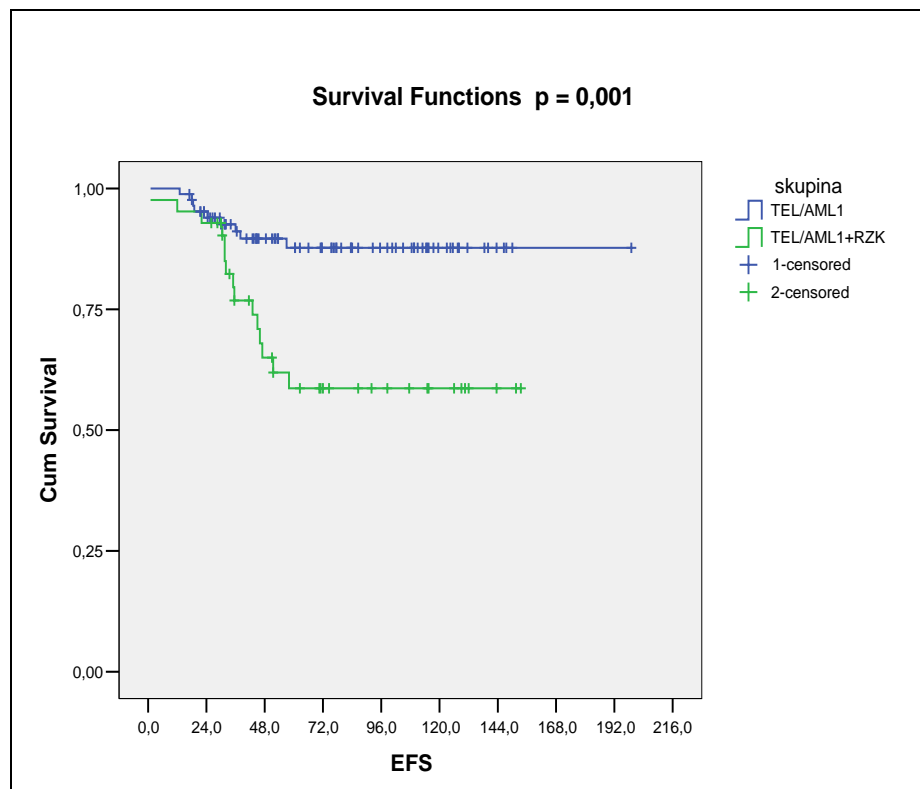
Konečná studie byla provedena na souboru 127 dětí diagnostikovaných v letech 1992-2006. Medián doby sledování je nyní 7 let. Vyšetřený soubor tvořilo 53 dívek a 74 chlapců s mediánem věku 4,3 let. *TEL/AML1* fúzní gen byl u všech dětí prokázán metodou RT-PCR a/nebo I-FISH (viz. Obrázek č. 6) Většina nemocných žije v první nebo druhé kompletní remisi. K relapsu došlo v této skupině celkem u 22 dětí (17,3%), pět z nich zemřelo.



Obrázek č. 6: Schéma DNA sondy pro detekci *TEL/AML1* fúze Vysis LSI ETV6(TEL)/RUNX1(AML1) ES Dual Color Translocation Probe Set (Abbott Molecular) (a), *TEL/AML1* pozitivní mitosa (b) a interfázní jádro (c)

Přítomnost jedné nebo dvou chromosomových aberací jsme prokázali u 85 pacientů (67%). Nejčastěji se jednalo o delecii netranslokované *TEL* alely (29 případů), trisomii/tetrasomii chromosomu 21 (23 případů), delecii 6q (8x) a/nebo přestavby dlouhých ramen chromosomu X (6 případů). Komplexní karyotyp, analyzovaný metodami mFISH a mBAND, jsme detekovali u 42 dětí (33%). U 14 z nich se jednalo o variantní translokaci zahrnující chromosomy 12 a 21 s dalším partnerským chromosomem, u ostatních jsme našli klasickou translokaci t(12;21)(p13q22) a další komplexní aberace (příklad viz. Obrázek č. 7). Nemocní s komplexním karyotypem měli vyšší výskyt relapsů (35,7% dětí) oproti nemocným s jednou nebo dvěma chromosomovými aberacemi (10,6%). Statistická analýza délky přežití bez události (EFS-„event free survival“) navíc prokázala u dětí s komplexním karyotypem statisticky významně kratší dobu do události oproti nemocným s jednou nebo dvěma chromosomovými aberacemi (viz. Graf č. 2, $p=0,001$) (**Příloha č. 13:** Zemanová a kol. 2008). V současné době jsou výsledky připraveny pro zaslání do zahraničního písemnictví.

Graf č. 2: Analýza EFS (event free survival) v měsících u dětí s a bez komplexních přestaveb a *TEL/AML1* fúzí



Obrázek č. 7: Analýza komplexních přestaveb karyotypu u pacienta s *TEL/AML1* fúzí metodou mFISH (MetaSystems):

46,XY,der(1)t(1;12)(q41;q14),del(8)(q11.2),del(11)(q23),(12;21)(p13;q22),del(12)(q14),der(14)t(14;11)(q23;q23),der(22)t(8;22)(q11.2;p11.1)

ZÁVĚR - CÍL 2.1.:

Metodami molekulární cytogenetiky jsme detailně analyzovali a podrobně popsali jednotlivé chromosomové aberace v buňkách kostní dřeně u 127 dětských pacientů s akutní lymfoblastickou leukemií a *TEL/AML1* fúzí. V našem souboru jsme prokázali nepříznivý vliv komplexních přestaveb na prognózu těchto dětí. Nález komplexního karyotypu byl, i přes přítomnost prognosticky příznivé translokace t(12;21)(p13;q22), provázen významně kratší dobou přežití do události, než u dětí bez komplexních chromosomových aberací (p=0,001).

3. Analýza dalších změn karyotypu u nemocných s prognosticky příznivou chromosomovou aberací

2.2. Difúzní gliomy

Difúzní gliomy patří k nejčastějším nádorům centrální nervové soustavy. Tvoří asi 25% všech mozkových nádorů u dospělých a roční incidence dosahuje 5,4 nových případů na 100 000 obyvatel. Gliomy tvoří heterogenní skupinu primárních mozkových maligních a benigních tumorů různých histologických subtypů, které se od sebe navzájem liší odezvou na léčbu a prognózou onemocnění. Dle WHO klasifikace jsou děleny do čtyř stupňů (WHO grade I-IV) (Smith a kol. 2000) a patří sem především nízkostupňové a anaplastické astrocytomy (WHO grade II a III), primární a sekundární glioblastomy (WHO grade IV) a nízkostupňové oligodendrogliomy a oligoastrocytomy (WHO II) a jejich anaplastické formy (WHO grade III).

Vzhledem k difúznímu charakteru je léčba gliomů velmi problematická, protože nemůže být nikdy radikální. Dosavadní terapeutické postupy tak obvykle nevedou k vyléčení pacientů, ale pouze k prodloužení relativně bezpříznakového období. Proto i u tumorů nižších stupňů dochází velmi často k upgradu a progresi onemocnění (Godard a kol. 2003). Rovněž diagnostika gliálních tumorů založená na jaderné a buněčné morfologii je stále do značné míry subjektivní a jednotlivé subtypy nelze někdy rozlišit ani pomocí specifických imunohistochemických markerů. V poslední době je proto kladen stále větší důraz na analýzu genomu buněk mozkových nádorů.

V posledních letech se pomocí molekulárně cytogenetických a molekulárně genetických analýz podařilo u difúzních gliomů identifikovat oblasti genomu, ve kterých dochází ke genovým mutacím, ztrátě heterozygoty nebo k rekurentním delecím či amplifikacím celých chromosomových oblastí. Bylo prokázáno, že tyto genetické změny korelují s histologickými a klinickými subtypy a v současné době je u řady z nich známa i jejich prognostická hodnota (Idbaih a kol. 2009).

Ve spolupráci s Neurochirurgickou klinikou Ústřední vojenské nemocnice a I.LF UK v Praze Střešovicích jsme na našem pracovišti zavedli molekulárně cytogenetickou analýzu nádorových buněk u pacientů s difúzními gliomy. K detekci aberací v gliálních buňkách používáme I-FISH s lokus-specifickými a/nebo centromerickými sondami a v závislosti na typu nádoru sledujeme nejčastější chromosomové aberace, tj. delece tumor supresorových genů *TP53*, *CDKN2A (p16)*, *RBI* a *PTEN*, delece chromosomových oblastí 1p36 a 19q13, amplifikace *EGFR* genu, trisomie chromosomu 7 a monosomie

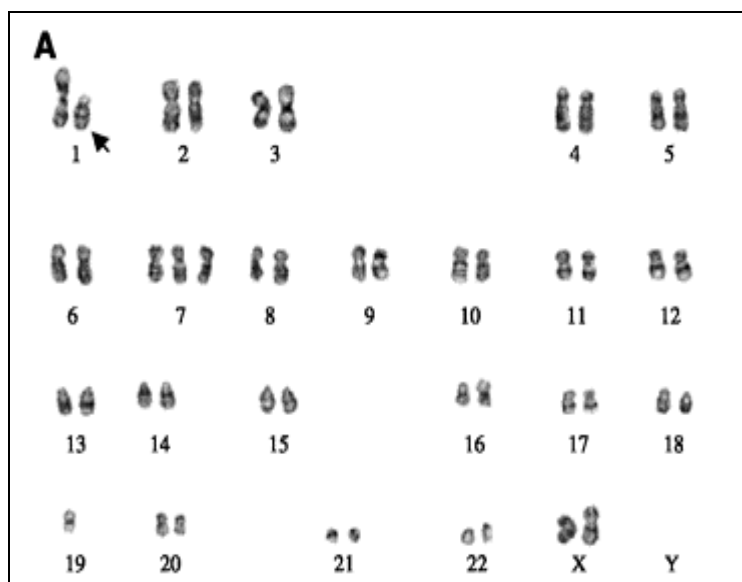
chromosomu 10. Molekulárně cytogenetickou analýzu provádíme na izolovaných buněčných jádrech z nefixované nádorové tkáně odebrané pro histologickou diagnostiku. U vybraných pacientů využíváme k analýze chromosomových aberací také metodu komparativní genomové hybridizace (CGH) a Single Nucleotide Polymorphism array (SNP array).

Patogeneze mozkových nádorů je zatím poměrně neznámá. Na současné poznatky o vzniku a vývoji gliálních tumorů z genetického hlediska a o významu chromosomových aberací jsme poukázali v přehledných člancích zaměřených na astrocytární tumory (**Příloha č. 14:** Kramář a kol. 2006a) a oligodendroglíální nádory (**Příloha č. 15:** Kramář a kol. 2006b).

Frekvenci a význam specifických chromosomových aberací u gliálních tumorů jsme prokázali u 81 pacientů (48 mužů a 33 žen) s difúzními gliomy přijatých na Neurochirurgickou kliniku Ústřední vojenské nemocnice v Praze za období březen 2004 až prosinec 2005. Nemocní byli rozděleni do tří skupin: „low grade“ tumory (20 případů), „high grade“ astrocytární tumory (45 případů) a oligodendroglíální tumory (16 případů). U všech nemocných jsme porovnávali výsledky molekulárně cytogenetické analýzy s morfologickými a klinickými ukazateli. Cytogenetická analýza poskytla informativní výsledek u 74 pacientů (91,3%), u 7 nemocných bylo vyšetření neinformativní z důvodu špatného odběru vzorku. Cytogenetické výsledky se shodovaly s histologickými a klinickými nálezy, u řady z nich navíc I-FISH přispěla k upřesnění diagnózy a/nebo prognózy. Největší klinický dopad měl především nález kombinované delecce 1p/19q u pacientů s oligodendrogliomy, který je ukazatelem delšího celkového přežití. (**Příloha č. 16:** Kramář a kol. 2007).

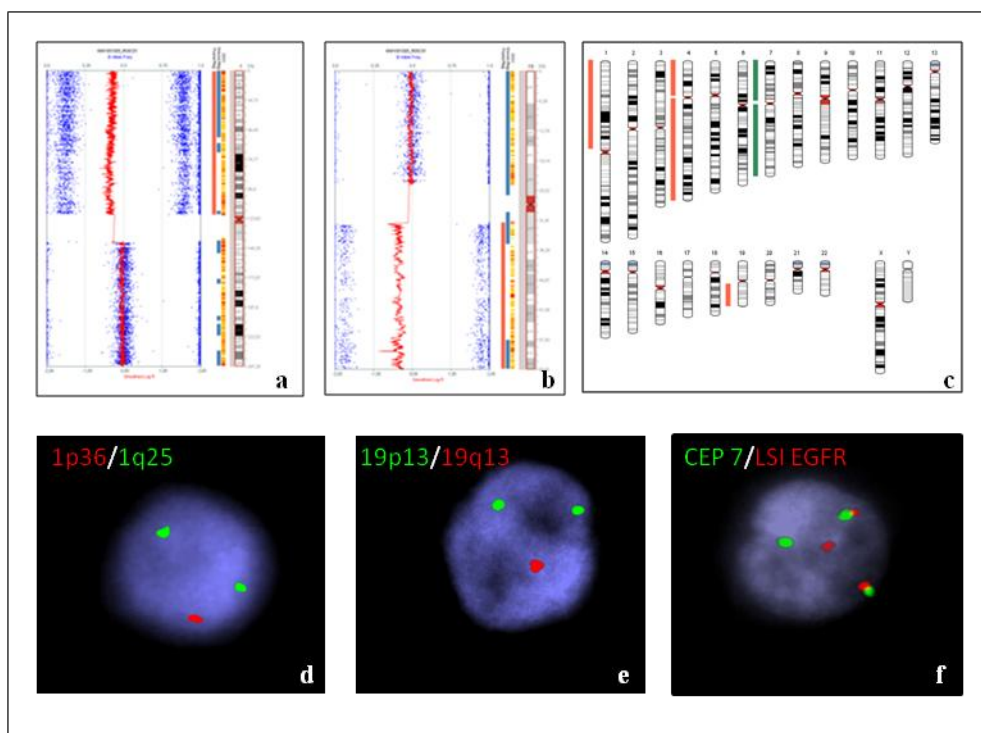
Přestože oligodendroglíální tumory představují pouze malou část difúzních gliomů (jsou tak na rozdíl od astrocytárních tumorů a glioblastomů poměrně vzácné), z klinického a genetického hlediska tvoří poměrně významnou skupinu mozkových nádorů. U 50-80% nemocných nacházíme v nádorových buňkách kombinovanou delecí 1p/19q, která nejčastěji vzniká v důsledku centrické (pericentrické) fúze za vzniku dvou derivovaných chromosomů der(1;19)(q10;p10) a der(1;19)(p10;q10) a následné ztrátě prvního z nich (viz Obrázek č. 8) (Bromberg a kol. 2009). Bylo prokázáno, že delecce 1p/19q je významným prediktorem delšího přežití bez ohledu na zvolený způsob terapie (chemoterapie či radioterapie) (Kanamori a kol. 2008). Nález této kombinované delecce je tak u pacientů s oligodendrogliomy jedním z nejdůležitějších prognostických faktorů a její detekce je důležitou součástí diagnostiky a prognostické stratifikace těchto pacientů. Význam

molekulárně cytogenetické analýzy při detekci delece 1p/19q jsme prokázali u skupiny 16 pacientů s histologicky potvrzenými oligodendrogliomy. Metodou I-FISH jsme v naší skupině detekovali kombinovanou delecí 1p/19q u 13 nemocných. U šesti z nich jsme navíc prokázali další chromosomové aberace (**Příloha č. 17:** Zemanová a kol. 2006b).



Obrázek č. 8: Karyotyp s translokací $t(1;19)(q10;p10)$ u pacienta s oligodendrogliomem. Převzato od Jenkins RB et al. Cancer Res 2006

V současné době se ukazuje, že v karyotypu nemocných s kombinovanou delecí 1p/19q se mohou vyskytovat i další chromosomové aberace typické zejména pro gliomy vyšších gradů a že u těchto pacientů může docházet k časnější progresi nádoru (Trost a kol. 2007). Přesto současné poznatky o vlivu dalších chromosomových aberací na prognózu nemocných s kombinovanou delecí 1p/19q jsou zatím minimální. Analyzovali jsme proto metodami I-FISH, CGH a SNP array soubor 43 nemocných s oligodendroglíálními nádory (19 žen a 24 mužů). Kombinovanou delecí 1p/19q jsme našli u 32 nemocných, z toho v 16 případech jako samostatnou cytogenetickou aberaci. Medián doby do progresu (PFS- „progression free survival“) byl 45 měsíců a pouze jeden pacient zemřel. U 16 pacientů jsme kromě kombinované delece 1p/19q detekovali ještě další chromosomové aberace. Nejčastěji se jednalo o aberace chromosomů 9 (monosomie nebo delece p16) a 7 (trisomie) (viz. Obrázek č. 9). U těchto nemocných jsme prokázali signifikantně horší PFS (medián 23,5 měsíců, 6 pacientů zemřelo) (**Příloha č. 18:** Lizcová a kol. 2010).



Obrázek č. 9: Detekce chromosomových aberací u pacienta s anaplastickým oligodendrogliomem metodou SNP array (Illumina) (a-c) a I-FISH (Abbot Molecular) (d-f): delece 1p (a), delece 19q (b), detekce dalších chromosomových aberací - červeně delece, zeleně amplifikace (c), delece 1p36 (d), delece 19q13 (e), trisomie chromosomu 7 (f)

ZÁVĚR – CÍL 3.1.:

Na našem pracovišti jsme zavedli molekulárně cytogenetickou analýzu difúzních gliomů a prokázali její význam pro detekci rekurentních chromosomových aberací při stanovení diagnózy a prognózy nemocných. U poloviny pacientů (16/32) s oligodendroglíálními tumory a prognosticky příznivou kombinovanou delecí 1p a 19q jsme metodami I-FISH, CGH a SNP array detekovali další chromosomové aberace typické pro gliomy vyšších gradů. U těchto pacientů jsme prokázali nepříznivý vliv dalších chromosomových aberací na jejich prognózu (PFS 45 měsíců vs. 23,5 měsíce).

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1: Babicka L, Zemanova Z, Pavlistova L, Brezinova J, Ransdorfova S, Houskova L, Moravcova J, Klamova H, Michalova K. Complex chromosomal rearrangements in patients with chronic myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2006a;168:22-9.

Příloha č. 2: Babicka L, Zemanova Z, Pavlistova L, Brezinova J, Moravcova J, Klamova H, Michalova K. Prognostic significance of complex chromosomal rearrangements in patients with chronic myeloid leukemia. *Haematol-Hematol J.* 2006b;91(1):218.

Příloha č. 3: Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, Lizcova L, Izakova S, Bystricka D, Sarova I, Sisikova M, Neuwirtova R, Cerna O, Cermak J. Complex chromosomal aberrations in bone marrow cell of 86 patients with myelodysplastic syndromes (MDS). *Haematol-Hematol J.* 2009a;94(2):13-14.

Příloha č. 4: Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, Lizcova L, Izakova S, Bystricka D, Sarova I, Berkova A, Siskova M, Neuwirtova R, Cerna O, Cermak J. Molecular cytogenetic studies of complex chromosomal aberrations in myelodysplastic syndromes (MDS). *Chromosome Res.* 2009b;17(1):131.

Příloha č. 5: Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, Lizcova L, Izakova S, Bystricka D, Sarova I, Siskova M, Cerna O, Cermak J. Frequency and prognostic impact of complex chromosomal aberrations in patients with primary myelodysplastic syndromes and del(5q). *Blood.* 2009c;114:1623.

Příloha č. 6: Babicka L, Ransdorfova S, Brezinova J, Zemanova Z, Sindelarova L, Siskova M, Maaloufova J, Cermak J, Michalova K. Analysis of complex chromosomal rearrangements in adult patients with acute myeloid leukemia using mFISH. *Leuk Res* 2007a;31(1):39-47.

Příloha č. 7: Babicka L, Zemanova Z, Brezinova J, Ransdorfova S, Pavlistova L, Siskova M, Maaloufova J, Cermak J, Michalova K. Complex chromosomal rearrangements in adult patients with AML are independent prognostic factor. *Haematol-Hematol J.* 2007b;92(1):360.

Příloha č. 8: Březinová J, Zemanová Z, Ransdorfová Š, Pavlišťová L, Babická L, Houšková L, Melicherčíková J, Šálková M, Čermák J, Michalová K. Structural aberrations of chromosome 7 revealed by combination of molecular cytogenetic techniques in patients with myeloid malignancies. *Cancer Genet Cytogenet.* 2007;173(1):10-6.

Příloha č. 9: Šárová I, Březinová J, Zemanová Z, Izáková S, Lizcová L, Malinová E, Berková A, Čermák J, Maaloufová J, Nováková L, Michalová K. Cytogenetic manifestation of chromosome 11 duplication/amplification in acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2010;199:121-7.

Příloha č. 10: Babická L, Zemanová Z, Pavlišťová L, Tajtlová J, Houšková L, Březinová J, Melicherčíková J, Michalová K. Diagnostika dětských ALL. Abstrakta-39. Výroční konference cytogenetické sekce, České Budějovice, 14.-15.9.2006c.

Příloha č. 11: Babicka L, Zemanova Z, Michalova K, Sindelarova L, Brezinova J, Oltova A, Mentzelova M, Jarosova M, Holzerova M, Hrubá M, Skuhrovcova J, Muzikova K, Formakova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Sary J. Prognostic significance of additional chromosomal aberrations in children with ETV6-AML1 positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematol-Hematol J.* 2005;90(2):217

Příloha č. 12: Zemanova Z, Michalova K, Babicka L, Pavlistova L, Jarosova M, Holzerova M, Oltova A, Hrubá M, Muzikova K, Zuna J, Trka J, Mihal V, Sterba J, Formankova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Sary J. Clinical Relevance of Complex Chromosomal Aberrations in Bone Marrow Cells of 107 Children with *ETV6/RUNX1* Positive Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). *Blood.* 2006a;108(11):645a.

Příloha č. 13: Zemanová Z, Michalová K, Babická L, Jarošová M, Holzerová M, Oltová A, Hrubá M, Smíšek P, Mužíková K, Zuna J, Trka J, Mihál V, Štěrbá J, Černá Z, Sedláček P, Starý J. Frekvence a klinický význam komplexních chromozomových aberací v souboru 127 dětí s TEL/AML1 pozitivní akutní lymfoblastickou leukémií (ALL). *Transfuz Hemat dnes.* 2008;14(2):74-75.

Příloha č. 14: Kramář F, Zemanová Z, Michalová K, Babická L, Ransdorfová Š, Kozler P, Netuka D. Patogeneze mozkových gliomů, I. část: Úvod do problematiky patogeneze astrocytárních nádorů. *Čes a slov Neurol Neurochir.* 2006a;69/102(5):346-354

Příloha č. 15: Kramář F, Zemanová Z, Michalová K, Babická L, Ransdorfová Š, Kozler P, Netuka D. Patogeneze mozkových gliomů, II. Část: Patogeneze oligodendrogliomů a gliomů v rámci dědičných onemocnění. *Čes a Slov Neurol Neurochir.* 2006b;69/102(6):419-425.

Příloha č. 16: Kramář F, Zemanová Z, Michalová K, Babická L, Ransdorfová Š, Hrabal P, Kozler P. Cytogenetic analyses in 81 patients with brain gliomas: correlation with clinical outcome and morphologic data. *J Neurooncol.* 2007;84(2):201-211.

Příloha č. 17: Zemanová Z, Kramář F, Babická L, Ransdorfová Š, Melicherčíková J, Hrabal P, Kozler P, Michalová K. Molecular cytogenetic stratification of recurrent oligodendrogliomas: utility of interphase fluorescence in situ hybridization (I-FISH). *Folia Biol.* 2006b; 52:71-8.

Příloha č. 18: Lizcova L, Zemanova Z, Kramar F, Ransdorfova S, Bystricka D, Hrabal P, Michalova K. Significance of additional chromosomal aberrations in patients with oligodendroglial tumors and 1p/19q deletion. Abstracts of 12th European workshop on cytogenetics and molecular genetics of solid tumors. Nijmegen, The Netherlands, 3.-6.7.2010.

Příloha č. 1: Babicka L, Zemanova Z, Pavlistova L, Brezinova J, Ransdorfova S, Houskova L, Moravcova J, Klamova H, Michalova K. Complex chromosomal rearrangements in patients with chronic myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2006a;168:22-9.

Příloha č. 2: Babicka L, Zemanova Z, Pavlistova L, Brezinova J, Moravcova J, Klamova H, Michalova K. Prognostic significance of complex chromosomal rearrangements in patients with chronic myeloid leukemia. Haematol-Hematol J. 2006b;91(1):218.

Příloha č. 3: Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, **Lizcova L**, Izakova S, Bystricka D, Sarova I, Sisikova M, Neuwirtova R, Cerna O, Cermak J. Complex chromosomal aberrations in bone marrow cell sof 86 patients with myelodysplastic syndromes (MDS). Haematol-Hematol J. 2009a;94(2):13-14.

Příloha č. 4: Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, **Lizcova L**, Izakova S, Bystricka D, Sarova I, Berkova A, Siskova M, Neuwirtova R, Cerna O, Cermak J. Molecular cytogenetic studies of complex chromosomal aberrations in myelodysplastic syndromes (MDS). *Chromosome Res.* 2009b;17(1):131.

Příloha č. 5: Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, **Lizcova L**, Izakova S, Bystricka D, Sarova I, Siskova M, Cerna O, Cermak J. Frequency and prognostic impact of complex chromosomal aberrations in patients with primary myelodysplastic syndromes and del(5q). Blood. 2009c;114:1623.

Příloha č. 6: Babicka L, Ransdorfova S, Brezinova J, Zemanova Z, Sindelarova L, Siskova M, Maaloufova J, Cermak J, Michalova K. Analysis of complex chromosomal rearrangements in adult patients with acute myeloid leukemia using mFISH. Leuk Res 2007a;31(1):39-47.

Příloha č. 7: Babicka L, Zemanova Z, Brezinova J, Ransdorfova S, Pavlistova L, Siskova M, Maaloufova J, Cermak J, Michalova K. Complex chromosomal rearrangements in adult patients with AML are independent prognostic factor. Haematol-Hematol J. 2007b;92(1):360.

Příloha č. 8: Březinová J, Zemanová Z, Ransdorfová Š, Pavlišťová L, **Babická L**, Houšková L, Melicherčíková J, Šálková M, Čermák J, Michalová K. Structural aberrations of chromosome 7 revealed by combination of molecular cytogenetic techniques in patients with myeloid malignancies. *Cancer Genet Cytogenet.* 2007;173(1):10-6.

Příloha č. 9: Šárová I, Březinová J, Zemanová Z, Izáková S, **Lizcová L**, Malinová E, Berková A, Čermák J, Maaloufová J, Nováková L, Michalová K. Cytogenetic manifestation of chromosome 11 duplication/amplification in acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2010;199:121-7.

Příloha č. 10: Babická L, Zemanová Z, Pavlišťová L, Tajtlová J, Houšková L, Březinová J, Melicherčíková J, Michalová K. Diagnostika dětských ALL. Abstrakta-39. Výroční konference cytogenetické sekce, České Budějovice, 14.-15.9.2006.

Příloha č. 11: Babicka L, Zemanova Z, Michalova K, Sindelarova L, Brezinova J, Oltova A, Mentzelova M, Jarosova M, Holzerova M, Hrubá M, Skuhrovcova J, Muzikova K, Formakova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Stary J. Prognostic significance of additional chromosomal aberrations in children with ETV6-AML1 positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematol-Hematol J.* 2005;90(2):217.

Příloha č. 12: Zemanova Z, Michalova K, **Babicka L**, Pavlistova L, Jarosova M, Holzerova M, Oltova A, Hrubá M, Muzikova K, Zuna J, Trka J, Mihal V, Sterba J, Formankova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Stary J. Clinical Relevance of Complex Chromosomal Aberrations in Bone Marrow Cells of 107 Children with *ETV6/RUNX1* Positive Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). *Blood*. 2006a;108(11):645a.

Příloha č. 13: Zemanová Z, Michalová K, **Babická L**, Jarošová M, Holzerová M, Oltová A, Hrubá M, Smíšek P, Mužíková K, Zuna J, Trka J, Mihál V, Štěřba J, Černá Z, Sedláček P, Starý J. Frekvence a klinický význam komplexních chromozomových aberací v souboru 127 dětí s TEL/AML1 pozitivní akutní lymfoblastickou leukémií (ALL). *Transfuz Hemat dnes*. 2008;14(2):74-75.

Příloha č. 14: Kramář F, Zemanová Z, Michalová K, **Babická L**, Ransdorfová Š, Kozler P, Netuka D. Patogeneze mozkových gliomů, I. část: Úvod do problematiky patogeneze astrocytárních nádorů. Čes a slov Neurol Neurochir. 2006a;69/102(5):346-354.

Příloha č. 15: Kramář F, Zemanová Z, Michalová K, **Babická L**, Ransdorfová Š, Kozler P, Netuka D. Patogeneze mozkových gliomů, II. Část: Patogeneze oligodendrogliomů a gliomů v rámci dědičných onemocnění. Čes a Slov Neurol Neurochir. 2006b;69/102(6):419-425.

Příloha č. 16: Kramář F, Zemanová Z, Michalová K, **Babická L**, Ransdorfová Š, Hrabal P, Kozler P. Cytogenetic analyses in 81 patients with brain gliomas: correlation with clinical outcome and morphologic data. J Neurooncol. 2007;84(2):201-211.

Příloha č. 17: Zemanová Z, Kramář F, **Babická L**, Ransdorfová Š, Melicherčíková J, Hrabal P, Kozler P, Michalová K. Molecular cytogenetic stratification of recurrent oligodendrogliomas: utility of interphase fluorescence in situ hybridization (I-FISH). *Folia Biol.* 2006b; 52:71-8.

Příloha č. 18: Lízová L, Zemanová Z, Kramář F, Ransdorfová S, Bystrická D, Hrabal P, Michalová K. Significance of additional chromosomal aberrations in patients with oligodendroglial tumors and 1p/19q deletion. Abstracts of 12th European Workshop on cytogenetics and molecular genetics of solid tumors. Nijmegen, The Netherlands, 3.-6.7.2010.

ZÁVĚR

Analyzovali jsme komplexní přestavby karyotypu moderními molekulárně cytogenetickými metodami u vybraných hematologických malignit a difúzních gliomů. Detailně jsme popsali jednotlivé komplexní chromosomové aberace a vytipovali jsme chromosomy a chromosomové oblasti, které jsou u konkrétních onemocnění do těchto přestaveb zahrnuty nejčastěji. Určili jsme rekurentní zlomová místa na chromosomech a poukázali tak na oblasti s možnou důležitou rolí v počátečních i pokročilých stádiích kancerogeneze u daných onemocnění.

Z klinického hlediska jsme prokázali, že komplexní změny karyotypu v době diagnózy u různých malignit jsou velmi špatným prognostickým ukazatelem. Nález komplexního karyotypu byl v našem souboru pacientů provázen špatnou odpovědí na léčbu, častými relapsy a krátkou dobou přežití. Potvrdili jsme negativní vliv komplexních změn na prognózu i u těch pacientů, u kterých se v karyotypu vyskytovala prognosticky příznivá chromosomová aberace.

Na unikátních souborech nemocných jsme tak prokázali, že z cytogenetického hlediska tvoří pacienti s komplexními přestavbami v době diagnózy zcela samostatnou skupinu s extrémně špatnou prognózou a to bez ohledu na typ nádoru anebo přítomnost příznivých genetických změn. Nález komplexních aberací v době diagnózy by tak měl vést k zařazení těchto pacientů do vysoce rizikových skupin.

Potvrdili jsme nesporný význam cytogenetického vyšetření nejen pro prognózu nemocných s různými typy nádorových onemocnění, ale i pro studium maligní transformace buněk. Především stálý rozvoj molekulárně cytogenetických metod umožňuje detailnější analýzu genomu nádorových buněk. V současné době jsou do rutinních provozů cytogenetických laboratoří zaváděny čipové technologie, kterými lze detekovat nejen nebalancované přestavby pod rozlišovací schopností dosud využívaných metod, ale dokonce i alelické imbalance. Kombinace všech cytogenetických metod umožňuje vymezit relativně malé oblasti v genomu s nesporným významem v patogenezi nádorových onemocnění. Díky detailním analýzám těchto oblastí tak byla v posledních letech identifikována nejen celá řada strukturních genů, jako jsou protoonkogeny nebo nádorové supresorové geny, ale také geny pro miRNA nebo oblasti s epigenetickými změnami.

Přestože v posledních letech došlo k obrovskému rozvoji na poli molekulárně biologických metod, cytogenetické vyšetření stále zůstává nedílnou součástí nejen managementu pacientů s maligním onemocněním ale i výzkumu nádorových buněk. Je

stále jedinou metodou umožňující celogenomovou analýzu (ve smyslu balancovaných i nebalancovaných aberací) jednotlivých buněk a tedy hodnocení genomové variability mezi jednotlivými nádorovými buňkami.

Nádorová cytogenetika je nezastupitelným oborem i pro současný biomedicínský výzkum, jež si mimo jiné klade za cíl využít genetických abnormalit jako prediktivních a prognostických markerů pro další upřesnění a individualizaci léčebného postupu u jednotlivých pacientů. Cytogenetická a molekulárně cytogenetická analýza nádorových buněk je obvykle základním krokem, který následně může vést k určení konkrétních molekulárních patogenetických mechanismů a jejich využití při vývoji nových léčebných intervencí, tak jak tomu například bylo u translokace $t(9;22)(q34;q11)$ a vývoji tyrosin kinázových inhibitorů.

LITERATURA POUŽITÁ V DOPROVODNÉM TEXTU

1. **Alvarez S and Cigudosa JC:** Gains, losses and complex karyotypes in myeloid disorders: a light at the end of the tunnel. *Hematol Oncol.* 2005;23:18-25.
2. **Alvarez Y, Gaitán S, Perez A, Bastida P, Ortega JJ, Dastugue N, Robert A, Aventín A, Badell I, Guitart M, Melo M, Caballín MR, Coll MD:** *ETV6/RUNX1* rearrangement in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia with normal karyotypes or without cytogenetic results. *Cancer Genet Cytogenet* 2004;152:77-80.
3. **Aplan PD.** Causes of oncogenic chromosomal translocation. *Trends Genet.* 2006;22:46-55.
4. **Arber DA, Brunning RD, Le Beau MM, Falini B, Vardiman JW, Porwit A, Thiele J, Bloomfield CD.** Acute myeloid leukaemia with recurrent genetic abnormalities. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC: Lyon 2008.
5. **Attarbaschi A, Mann G, König M, Dworzak MN, Trebo MM, Mühlegger N, Gadner H, Haas OA.** Incidence and relevance of secondary chromosome abnormalities in childhood *TEL/AML1*+ acute lymphoblastic leukemia: an interphase FISH analysis. *Leukemia.* 2004;18:1611-1616.
6. **Babicka L, Ransdorfova S, Brezinova J, Zemanova Z, Sindelarova L, Siskova M, Maaloufova J, Cermak J, Michalova K.** Analysis of complex chromosomal rearrangements in adult patients with acute myeloid leukemia using mFISH. *Leuk Res.* 2007;31(1):39-47.
7. **Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C.** Proposals for the classification of the acute leukaemias: French-American-British Cooperative Group. *Br J Haematol.* 1976;33:451-458.
8. **Bennour A, Sennana H, Laatiri MA, Elloumi M, Khelif A, Saad A.** Molecular cytogenetic characterization of variant Philadelphia translocations in chronic myeloid leukemia: genesis and deletion of derivative chromosome 9. *Cancer Genet Cytogenet.* 2009 Oct;194(1):30-7.
9. **Borowitz MJ and Chan JKC.** B lymphoblastic leukaemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC: Lyon 2008.
10. **Bots M and Johnstone RW.** Rational combinations using HDAC inhibitors. *Clin Cancer Res.* 2009;15:3970-3977.
11. **Boveri T.** Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Gustav Fisher, Jena, 1914:1-64.
12. **Breems DA, Van Putten WL, De Greef GE, Van Zelderren-Bhola SL, Gerssen-Schoorl KB, Mellink CH, Nieuwint A, Jotterand M, Hagemeyer A, Beverloo HB, Löwenberg B.** Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol.* 2008;26(29):4791-7.
13. **Broadfield ZJ, Hain RD, Harrison CJ, Reza Jalai G, McKinley M, Michalova K, Robinson HM, Zemanova Z, Martieau M.** Complex chromosomal abnormalities in utero, 5 years before leukaemia. *Br J Haematol.* 2004;126(3):307-12.
14. **Bromberg JE, van den Bent MJ.** Oligodendrogliomas: Molecular biology and treatment. *Oncologist.* 2009;14:155-163.
15. **Brunning RD, Orazi A, Germing U, Le Beau MM, Porwit A, Baumann I, Vardiman JW, Hellstrom-Lindberg E.** Myelodysplastic syndromes/neoplasms,

- overview. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC: Lyon 2008.
16. **Calin GA and Croce CM.** MicroRNA signatures in human cancers. *Nature Rev Cancer.* 2006;6:857-866.
 17. **Cancer genome project.** www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/
 18. **Cazzola M and Malcovati L.** Myelodysplastic syndromes: coping with ineffective hematopoiesis. *N Engl J Med.* 2005;352:536-8.
 19. **Coe BP, Ylstra B, Carvalho B, Meijer GA, Macaulay C, Lam WL.** Resolving the resolution of array CGH. *Genomics.* 2007;89:647-653.
 20. **Croce CM.** Oncogenes and cancer. *N Engl J Med.* 2008;358:502-511.
 21. **Croce CM.** Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nat Rev Genet.* 2009;10(10):704-714.
 22. **Ebert BL, Pretz J, Bosco J, Chang CY, Tamayo P, Galili N, Raza A, Root DE, Attar E, Ellis SR, Golub TR.** Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature.* 2008; 451(17):335-339.
 23. **Esquela-Kerscher A and Slack FJ.** Oncomirs-microRNAs with a role in cancer. *Nature Rev Cancer.* 2006;6:259-269.
 24. **Eyford JE and Bodvarsdottir SK.** Genomic instability and cancer: network involved in response to DNA damage. *Mutat Res.* 2005;592:18-28.
 25. **Fodde R and Smits R.** Cancer biology. A matter of dosage. *Science.* 2002;298:761-763.
 26. **Foijer F, te Riele H.** Check, double check: the G2 barrier to cancer. In Ye CJ, Liu G, Bremer SW, Heng HHQ. The dynamics of cancer chromosomes and genomes. *Cytogenet Res.* 2007;118:237-246.
 27. **Forestier E, Heyman M, Andersen MK, Autio K, Blennow E, Borgström G, Golovleva I, Heim S, Heinonen K, Hovland R, Johannsson JH, Kerndrup G, Nordgren A, Rosenquist R, Swolin B, Johansson B.** Outcome of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukaemia in the NOPHO-ALL-1992 protocol: frequent late relapses but good overall survival. *Br J Haematol.* 2008;140(6):665-72.
 28. **Fu J, Bian M, Jiang Q, Zhang C.** Roles of aurora kinases in mitoses and tumorigenesis. *Mol Cancer Res.* 2007;5(1):1-10.
 29. **Gale KB, Ford AM, Repp R, Borkhardt A, Keller C, Eden OB, Greaves MF.** Backtracking leukemia to birth: identification of clonotypic gene fusion sequences in neonatal blood spots. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94(25):13950-4.
 30. **Gisselsson D.** Cytogenetic methods. In Heim S and Mitelman F eds. *Cancer Cytogenetics.* Third edition. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA. 2009;9-18.
 31. **Godard S, Getz G, Delorenzi M, Farmer P, Kobayashi H, Desbaillets I, Nozaki M, Diserens AC, Hamou MF, Ditrach PY, Regli L, Janzer RC, Bucher P, Stupp R, de Tribolet N, Domany E, Hegi ME:** Classification of human astrocytic gliomas on the basis of gene expression: a correlated group of genes with angiogenic activity emerges as a strong predictor of subtypes. *Cancer Res.* 2003;63:6613-6625.
 32. **Godley LA and Larson RA.** The syndrome of therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia. In Bennett JM ed. *The myelodysplastic Syndromes: Pathobiology and Clinical Management.* New York: Marcel Dekker Inc. 2002;p194-202.
 33. **Godley LA.** Deletion of the der(9q) in chronic myeloid leukemia: the controversy continues. *Leuk Lymphoma.* 2009;50(6):871-2.
 34. **Gollin SM.** Mechanisms leading to chromosomal instability. *Semin Cancer Biol.* 2005;15:33-42.

35. **Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, Sanz M, Vallespi T, Hamblin T, Oscier D, Ohyashiki K, Toyama K, Aul C, Mufti G, Bennet J.** International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997;89:2079-20887.
36. **Haase D.** Cytogenetic features in myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol*. 2008;87:512-526.
37. **Harrison CJ and Johanson B.** Acute lymphoblastic leukemia. In Heim S and Mitelman F eds. *Cancer Cytogenetics*. Third edition. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA. 2009;233-296
38. **Harrison CJ, Moorman AV, Barber KE, Broadfield ZJ, Cheung KL, Harris RL, Jalali GR, Robinson HM, Strefford JC, Stewart A, Wright S, Griffiths M, Ross FM, Harewood L, Martineau M.** Interphase molecular cytogenetic screening for chromosomal abnormalities of prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a UK Cancer Cytogenetics Group Study. *Br J Haematol*. 2005;129(4):520-30.
39. **Heim S and Mitelman F.** Nonrandom chromosome abnormalities in cancer – an overview. In Heim S and Mitelman F eds. *Cancer Cytogenetics*. Third edition. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA. 2009;25-44.
40. **Hochhaus A, Krejl S, Corbin AS, La Rosée P, Müller MC, Lahaye T, Hanfstein B, Schoch C, Cross NCP, Berger U, Gschaidmeier H, Drucker BJ, Hehlmann R.** Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI571) therapy. *Leukemia*. 2002;16:2190-2196.
41. **Idbaih A, Crinière E, Ligon KL, Delattre O, Delattre JY.** Array-Based Genomics in Glioma Research. *Brain Pathol*. 2010;20(1):28-38.
42. **Jenkins RB, Blair H, Ballman KV, Giannini C, Arusell RM, Law M, Flynn H, Passe S, Felten S, Brown PD, Shaw EG, Buckner JC.** A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis of patients with oligodendroglioma. *Cancer Res*. 2006;66(20):9852-61.
43. **Johansson B, Fioretos T, Mitelman F:** Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia. *Acta Hematol*. 2002;107: 76-94.
44. **Jones PA and Baylin SB.** The epigenomics of cancer. *Cell*. 2007;128:683-692.
45. **Joslin JM, Fernald AA, Tennant TR, Davis EM, Kogan SC, Anastasi J, Crispino JD, Le Beau MM.** Haploinsufficiency of EGR1, a candidate gene in the del(5q), leads to the development of myeloid disorders. *Blood*. 2007;110:719-726.
46. **Kanamori M, Kumabe T, Sonoda Y, Nishino Y, Watanabe M, Tominaga T.** Predictive factors for overall and progression-free survival, and dissemination in oligodendroglial tumors. *J Neurooncol*. 2008;93(2):219-28.
47. **Kanwal R, Gupta S.** Epigenetics and Cancer. *J Appl Physiol*. 2010;109(2):598-605.
48. **Knudson AG Jr.** Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1971;68(4):830-3.
49. **La Starza R, Testoni N, Lafage-Pochitaloff M, Ruggeri D, Ottaviani E, Perla G, Martelli MF, Marynen P, Mecucci C:** Complex variant Philadelphia translocations involving the short arm of chromosome 6 in chronic myeloid leukemia. *Haematologica*. 2002;87:143-147.
50. **Lindvall CH, Furge K, Björkholm M, guo X, Haab B, Blennow E, Nordenskjöld, Teh BT.** Combined genetic and transcriptional profiling of acute myeloid leukemia with normal and complex karyotypes. *Haematologica*. 2004;89:1072-1081.
51. **Ma X, Does M, Raza A, Mayne ST.** Myelodysplastic syndromes: incidence and survival in the United States. *Cancer*. 2007;109:1536-1542.

52. **Maia AT, van der Velden VH, Harrison CJ, Szecepanski T, Williams MD, Griffiths MJ, van Dongen JJ, Greaves MF.** Prenatal origin of hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia in identical twins. *Leukemia*. 2003;17(11):2202-6.
53. **McHale CM, Wiemels JL, Zhang L, Ma X, Buffler PA, Guo W, Loh ML, Smith MT.** Prenatal origin of TEL-AML1-positive acute lymphoblastic leukemia in children born in California. *Genes Chromosomes Cancer*. 2003;37(1):36-43.
54. **Melo JV:** The diversity of BCR/ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype. *Blood*. 1996;88:2375-2384.
55. **Melo JV, Barnes DJ.** Chronic myeloid leukaemia as a model of disease evolution in human cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007;7:441-453.
56. **Mitelman F, Johansson B, Mertens F.** The impact of translocations and gene fusion on cancer causation. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(4):233-245.
57. **Mitsiades CS, Anderson KC.** Epigenetic modulation in hematologic malignancies: challenges and progress. *J Natl Compr Canc Netw*. 2009;7(Suppl 8):S1-12; quiz S14-6.
58. **Mrózek K, Heinonen K, Bloomfield CD:** Clinical importance of cytogenetics in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2001;14:19-47.
59. **Mulighan CG, Goorha S, Radtke I, Miller CB, Coustan-Smith E, Dalton JD, Girtman K, Mathew S, Ma J, Pounds SB, Su X, Pui CH, Relling MV, Evans WE, Shurtleff SA, Downing JR.** Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukemia. *Nature*. 2007;446:758-764.
60. **Naumann S and Decker HJ:** Genesis of variant Philadelphia chromosome translocations in chronic myelocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet*. 2003;147:18-22.
61. **Nicholas J, Jeang KT, Wu TC (eds.).** Human cancer viruses. Principles of transformation and pathogenesis. Karger, Basel Switzerland. 2008.
62. **Olney JH and Le Beau MM.** Myelodysplastic syndrome. In Heim S and Mitelman F eds. *Cancer Cytogenetics*. Third edition. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA. 2009;p.141-178.
63. **Pérez Fidalgo JA, Roda D, Roselló S, Rodríguez-Braun E, Cervantes A.** Aurora kinase inhibitors: a new class of drugs targeting the regulatory mitotic system. *Clin Transl Oncol*. 2009;11(12):787-98.
64. **Pieńkowska-Grela B, Rygier J, Woroniecka R, Grygalewicz B, Pastwińska A, Krawczyk P, Ceglerek B, Seferyńska I, Sikorska A, Konopka L.** Karyotype changes during long-term targeted therapy of chronic myeloid leukemia with imatinib. *Leuk Lymphoma*. 2009 Jun;50(6):952-65.
65. **Rubnitz JE.** Acute lymphoblastic leukemia in children. (<http://www.emedicine.com/ped/topic2587.html>), 2005.
66. **Sessarego M, Fugazza G, Bruzzone R, Ballestrero A, Miglino M, Bacigalupo A:** Complex chromosome rearrangements may locate the bcr/abl fusion gene sites other than 22q11. *Haematologica*. 2000;85:35-39.
67. **Schoch C, Haferlach T, Haase D, Fonatsch C, Loffer H, Schlegelberger B, Staib P, Sauerland MC, Heinecke A, Buchner T, Hiddemann W. German AML Study Group:** Patients with de novo acute myeloid leukaemia and complex karyotype aberrations show a poor prognosis despite intensive treatment: a study of 90 patients. *Br J Haematol*. 2001;112:118-126.
68. **Smith JS, Perry A, Botelù TJ, Lee HK, O'Fallon J, Hosek SM, Kimmel D, Yates A, Burger PC, Scheithauer BW, Jenkins RB:** Alterations of chromosome arms 1p

- and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas and mixed oligoastrocytomas. *J Clin Oncol.* 2000;18:635-645.
69. **Standart N and Jackson RJ.** MicroRNAs repress translation of m7Gppp-capped target mRNAs in vitro by inhibiting initiation and promoting deadenylation. *Genes Dev.* 2007; 21(16):1975-82.
 70. **Starý J.** Akutní lymfoblastická leukémie v dětském věku. In: Mayer J, Starý J a kol. (eds.): *Leukémie.* GRADA Publishing, Praha, 2002: 235-239.
 71. **Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA.** The cancer genome. *Nature.* 2009;458:719–724.
 72. **Strom SS, Velez-Bravo V, Estey EH.** Epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol.* 2008;45:1-6.
 73. **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds.).** WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC: Lyon 2008.
 74. **Trost D, Ehrler M, Fimmers R, Felsberg J, Sabel MC, Kirsch L, Schramm J, Wiestler OD, Reifenberger G, Weber RG.** Identification of genomic aberrations associated with shorter overall survival in patients with oligodendroglial tumors. *Int J Cancer.* 2007;120(11):2368-76.
 75. **Tuna M, Knuutila S, Mills GB.** Uniparental disomy in cancer. *Trends Mol Med.* 2009;15(3):120-8.
 76. **Vardiman JW, Harris NL, Brunning R.** The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood.* 2002;100(7):2292-2302.
 77. **Vardiman JW.** Myelodysplastic syndromes, chronic myeloproliferative diseases, and myelodysplastic/myeloproliferative diseases. *Semin Diagn Pathol.* 2003;20:154-179.
 78. **Vardiman JW, Melo JV, Baccarani M, Thiele J.** Chronic myelogenous leukaemia, *BCR-ABL* positive. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC: Lyon 2008.
 79. **Weinblatt ME.** Acute myelocytic leukemia. In: Sakamoto K, Konop R, Cripe TP, Gross S, Arceci RJ (ed.) (<http://www.emedicine.com/ped/topic1301.html>), 2004.
 80. **Wiemels JL, Cazzaniga G, Daniotti M, Eden OB, Addison GM, Masera G, Saha V, Biondi A, Greaves MF.** Prenatal origin of acute lymphoblastic leukaemia in children. *Lancet.* 1999;354(9189):1499-503.
 81. **Ye CJ, Liu G, Bremer SW, Heng HHQ.** The dynamics of cancer chromosomes and genomes. *Cytogenet Res.* 2007;118:237-246.
 82. **Zemanova Z, Michalova K, Babicka L, Pavlistova L, Jarosova M, Holzerova M, Oltova A, Hrubá M, Muzikova K, Zuna J, Trka J, Mihal V, Sterba J, Formankova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Stara J.** Clinical relevance of complex chromosomal aberrations in bone marrow cells of 107 children with *ETV6/RUNX1* positive acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood.* 2006;108(11):645a.
 83. **Zhang Y and Rowley JD:** Chromatin structural elements and chromosomal translocations in leukemia. *DNA Repair.* 2006;5:1282-1297.
 84. **Zhao Y, Wu G, Wu K, Liu L, Cao W, Yu X, Luo Y, Shi J, Tan Y, Huang H.** Simultaneous occurrence of variant Philadelphia translocations and *ABL* mutations in two patients with chronic myeloid leukemia. *Leuk Res.* 2009 Jul;33(7):e85-7.
 85. **Zuna J, Muzikova K, Ford AM, Maia AT, Krejci O, Tousovska K, Oravkinova I, Greaves M, Trka J.** Pre-natal clonal origin of acute lymphoblastic leukaemia in triplets. *Leuk Lymphoma.* 2003;44(12):2099-102.
 86. **Zuna J, Ford AM, Peham M, Patel N, Saha V, Eckert C, Köchling J, Panzer-Grümayer R, Trka J, Greaves M.** TEL deletion analysis supports a novel view of

relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. Clin Cancer Res. 2004;10(16):5355-60.

GRANTOVÉ PROJEKTY

Výzkumná část disertační práce byla podpořena grantovými projekty a výzkumnými záměry:

- **GAČR 301/04/0407** (2004-2006) - Nestabilita genomu leukemických buněk na chromosomové úrovni. Hlavní řešitel: Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.
- **IGA MZ ČR 1A/8237-3** (2004-2006) - Molekulárně cytogenetická analýza buněk mozkových tumorů a její přínos pro diagnostiku a léčbu. Hlavní řešitel: Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.
- **IGA MZ ČR NR/7995-3** (2004-2006): Mapování zlomových míst delecí a kryptických aberací chromosomů 3 a 7 u hematologických malignit molekulárně cytogenetickými metodami. Hlavní řešitel: RNDr. Jana Březinová, Ph.D.
- **IGA NR/9227-3** (2007-2009) – Molekulárně cytogenetická analýza komplexních chromosomových aberací v buňkách kostní dřeně nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) a akutní myeloidní leukémií (AML) a jejich prognostický význam. Hlavní řešitel: Doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc.
- **VZ LC535** (2005-2011): Dynamika a organizace chromosomů během buněčného cyklu v normě a patologii. Hlavní řešitel: Prof. RNDr. Ivan Raška, DrSc., Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.
- **VZ MSM0021620808** (2005-2011) - Molekulárně biologické, genetické a epigenetické aspekty vzniku a rozvoje modelových tumorů dospělého věku. Význam pro epidemiologii, časnou diagnostiku a léčbu. Hlavní řešitel: Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.
- **VZ MZO VFN2005** (2005-2011) - Diagnostika a léčba geneticky podmíněných poruch II. Hlavní řešitel: Prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.
- **VZ MSM0021620813** (2005-2011) - Molekulární základy dětských nádorových onemocnění a léčebné aplikace. Hlavní řešitel: Prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.

SEZNAM PUBLIKACÍ, PŘEDNÁŠEK A POSTEROVÝCH SDĚLENÍ

(2004 - srpen 2010)

Články v odborných časopisech s IF:

Lizcova L, Zemanova Z, Malinova E, Jarosova M, Mejstrikova E, Smisek P, Pospisilova D, Stary J, Michalova K: A novel recurrent chromosomal aberration involving chromosome 7 in childhood MDS. *Cancer Genet Cytogenet.* 2010;201:52-56. **IF 1,537**

Šárová I, Březinová J, Zemanová Z, Izáková S, **Lizcová L**, Malinová E, Berková A, Čermák J, Maaloufová J, Nováková L, Michalová K: Cytogenetic manifestation of chromosome 11 duplication/amplification in acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2010;199:121-127. **IF 1,537**

Šárová I, Březinová J, Zemanová Z, **Lizcová L**, Berková A, Izáková S, Malinová E, Fuchs O, Kostečka A, Provazníková D, Filkuková J, Maaloufová J, Starý J, Michalová K: A partial nontandem duplication of the MLL gene in four patients with acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2009;195:150-156. **IF 1,482**

Zuna J, Prouzova Z, Kalina T, **Lizcova L**, Zemanova Z, Muzikova K, Rahmatova S, Meijerink JP, Trka J: Backtracking of ALL to cord blood. *Leuk Res.* 2009;33(8):107-8. **IF 2,39**

Berkova A, Pavlistova L, **Babicka L**, Houskova L, Tajtlova J, Balazi P, Cmun E, Schwarz J, Karban J, Trneny M, Brezinova J, Zemanova Z, Michalova K: Combined molecular biological and molecular cytogenetic analysis of genomic changes in 146 patients with B-CLL. *Neoplasma.* 2008;55(5):400-8. **IF 1,179**

Babicka L, Ransdorfova S, Brezinova J, Zemanova Z, Sindelarova L, Siskova M, Maaloufova J, Cermak J, Michalova K: Analysis of complex chromosomal rearrangements in adult patients with acute myeloid leukemia using mFISH. *Leuk Res.* 2007;31(1):39-47. **IF 2,72**

Březinová J, Zemanová Z, Ransdorfová Š, Pavlišťová L, **Babická L**, Houšková L, Melicherčíková J, Šálková M, Čermák J, Michalová K: Structural aberrations of chromosome 7 revealed by combination of molecular cytogenetic techniques in patients with myeloid malignancies. *Cancer Genet Cytogenet.* 2007;173(1):10-6. **IF 1,640**

Kramář F, Zemanová Z, Michalová K, **Babická L**, Ransdorfová Š, Hrabal P, Kozler P: Cytogenetic analyses in 81 patients with brain gliomas: correlation with clinical outcome and morphologic data. *J Neurooncol.* 2007;84(2):201-211. **IF 2,325**

Babicka L, Zemanova Z, Pavlistova L, Brezinova J, Ransdorfova S, Houskova L, Moravcova J, Klamova H, Michalova K: Complex chromosomal rearrangements in patients with chronic myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2006;168:22-9. **IF 1,640**

Zemanová Z, Kramář F, **Babická L**, Ransdorfová Š, Melicherčíková J, Hrabal P, Kozler P, Michalová K: Molecular cytogenetic stratification of recurrent oligodendrogliomas: utility of interphase fluorescence in situ hybridization (I-FISH). *Folia Biol.* 2006; 52:71-8. **IF 0,719**

Kramář F, Zemanová Z, Michalová K, **Babická L**, Ransdorfová Š, Kozler P, Netuka D: Patogeneze mozkových gliomů, I. část: Úvod do problematiky patogeneze astrocytárních nádorů. *Čes a slov Neurol Neurochir.* 2006;69/102(5):346-354. **IF 0,07**

Kramář F, Zemanová Z, Michalová K, **Babická L**, Ransdorfová Š, Kozler P, Netuka D: Patogeneze mozkových gliomů, II. Část: Patogeneze oligodendrogliomů a gliomů v rámci dědičných onemocnění. *Čes a Slov Neurol Neurochir.* 2006;69/102(6):419-425. **IF 0,07**

Abstrakta na mezinárodních konferencích:

Lizcova L, Zemanova Z, Malinova E, Jarosova M, Mejstrikova E, Smisek P, Pospisilova D, Stary J, Michalova K: Molecular cytogenetic analysis of novel recurrent abnormality of chromosome 7 in three pediatric patients with myelodysplastic syndrome (MDS). *Eur J Hum Genet.* 2010;18(1):196. **IF 3,564**

Malinova E, **Lizcova L**, Zemanova Z, Berkova A, Smisek P, Stary J, Michalova K: Isochromosome i(9)(q10) in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(1):196. **IF 3,564**

Sarova I, Brezinova J, Izakova S, Malinova E, Zemanova Z, **Lizcova L**, Cermak J, Polivka J, Vydra J, Siskova M, Michalova K: Cytogenetic analyse of the chromosome 11 duplication/amplification in acute myeloid leukemia. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(1):195. **IF 3,564**

Brezinova J, Vcelikova S, Berkova A, Zemanova Z, Izakova S, Sarova I, Cechova H, Grosova L, **Lizcova L**, Malinova E, Zemanova M, Cmunt E, Trneny, Karban J, Schwarz J, Michalova K: Telomere length evaluation in patients with B-chronic lymphocytic leukemia – correlation with other molecular, cytogenetic and immunophenotypic features. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(1):193-194. **IF 3,564**

Lizcova L, Zemanova Z, Kramar F, Ransdorfova S, Bystricka D, Hrabal P, Michalova K: Significance of additional chromosomal aberrations in patients with oligodendroglial tumors and 1p/19q deletion. Abstracts of 12th European Workshop on Cytogenetics and Molecular Genetics of Solid Tumors. Nijmegen, The Netherlands, 3.-6.7.2010.

Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, **Lizcova L**, Izakova S, Bystricka D, Sarova I, Siskova M, Cerna O, Cermak J. Frequency and prognostic impact of complex chromosomal aberrations in patients with primary myelodysplastic syndromes and del(5q). *Blood*. 2009;114:1623. **IF 10,555**

Zuna J, Zaliova M, Muzikova K, Meyer C, **Lizcova L**, Zemanova Z, Brezinova J, Votava F, Marschalek R, Sary J, Trka J: Acute leukemias with TEL/ABL fusion: a subgroup with poor prognosis and prenatal origin. *Blood*. 2009;114:1018-1019. **IF 10,555**

Mejstrikova E, Kabickova E, Sumerauer D, Seeman T, Fronkova E, Zemanova Z, **Lizcova L**, Sedlacek P, Smisek P, Muzikova K, Pospisilova K, Janda A, Kodet R, Capkova L, Sary J, Hrusak O. Acquisition of isochromosome 7 is a late change in the pathogenesis of hepatosplenic lymphoma, documented on a case of adolescent girl 5 years after renal transplant with preceding TCR gamma-delta positive LGL leukemia. *Blood*. 2009;114:1462. **IF 10,555**

Lizcova L, Zemanova Z, Kramar F, Ransdorfova S, Hrabal P, Michalova K: Molecular cytogenetic study of oligodendroglial tumors. *Eur J Hum Genet*. 2009;17(2):215. **IF 3,925**

Izakova S, Sarova I, Brezinova J, Zemanova Z, Berkova A, **Lizcova L**, Maaloufova J, Michalova K: MLL amplification in patients with acute myeloid leukemia (AML). *Eur J Hum Genet*. 2009;17(2):209. **IF 3,925**

Sarova I, Brezinova J, **Lizcova L**, Zemanova Z, Fuchs O, Kostecka A, Provaznikova D, Filkukova J, Maaloufova J, Michalova K: The unusual MLL rearrangement in acute myeloid leukemia. *Haematol-Hematol J*. 2009;94(2):13. **IF 5,978**

Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, **Lizcova L**, Izakova S, Bystricka D, Sarova I, Sisikova M, Neuwirtova R, Cerna O, Cermak J: Complex chromosomal aberrations in bone marrow cells of 86 patients with myelodysplastic syndromes (MDS). *Haematol-Hematol J*. 2009;94(2):13-14. **IF 5,978**

Brezinova J, Vcelikova S, Berkova A, Zemanova Z, Izakova S, Sarova I, Cechova H, Tajtlova J, Grosova L, **Lizcova L**, Malinova E, Zemanova M, Cmunt E, Karban J, Schwarz J, Michalova K: Prognostic significance of telomere length, molecular cytogenetic findings and immunophenotypic features in patients with B-chronic lymphocytic leukemia. *Haematol-Hematol J*. 2009;94(2):22. **IF 5,978**

Lizcova L, Zemanova Z, Malinova E, Brezinova J, Izakova S, Zuna J, Mejstrikova E, Smisek P, Michalova K: Molecular cytogenetic characterization of translocation t(9;12)(q34;p13) and ETV6/ABL1 fusion in patients with acute lymphoblastic leukemia. *Chromosome Res*. 2009;17(1):126. **IF 3,405**

Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, **Lizcova L**, Izakova S, Bystricka D, Sarova I, Siskova M, Cerna O, Cermak J: Molecular cytogenetic studies of complex chromosomal

aberrations in myelodysplastic syndromes (MDS). *Chromosome Res.* 2009;17(1):131. **IF 3,405**

Brezinova J, Vcelikova S, Berkova A, Zemanova Z, Izakova S, Sarova I, **Lizcova L**, Cmnt E, Schwarz J, Michalova K: Molecular cytogenetics, telomere length and other molecular and immunophenotypic features in patients with B-chronic lymphocytic leukemia. *Chromosome Res.* 2009;17(1):127. **IF 3,405**

Zemanova Z, Michalova K, Brezinova J, **Lizcova L**, Izakova S, Siskova M, Cerna O, Cermak J: Molecular cytogenetic studies of complex karyotypes in myelodysplastic syndromes (MDS): conventional cytogenetics, FISH and multiplex FISH (mFISH/mBAND). *Blood.*2008;112:5075. **IF 10,432**

Babicka L, Malinova E, Zemanova Z, Berkova A, Tajtlova J, Zuna J, Mejstrikova E, Sary J, Michalova K: Molecular cytogenetic study of childhood T-ALL. *Haematol-Hematol J.* 2008;93(1):231. **IF 5,978**

Berkova A, Pavlistova L, Brezinova J, **Babicka L**, Malinova E, Grosova L, Tajtlova J, Cmnt E, Schwarz J, Karban J, Trneny M, Zemanova Z, Michalova K: Clonal evolution studied by I-FISH in B-CLL. *Haematol-Hematol J.* 2008;93(1):384. **IF 5,978**

Brezinova J, Zemanova Z, **Babicka L**, Izakova S, Cermak J, Siskova M, Michalova K: Chromosomes 3 and 7 rearrangements in complex chromosomal aberrations in patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Eur J Hum Genet.* 2008;16(2):207. **IF 3,925**

Zemanova Z, Brezinova J, **Babicka L**, Izakova S, Siskova M, Cermak J, Michalova K.: Molecular cytogenetic study of 69 patients with myelodysplastic syndromes and complex chromosomal aberrations. *Eur J Hum Genet.* 2008;16(2):215. **IF 3,925**

Babicka L, Zemanova Z, Brezinova J, Ransdorfova S, Pavlistova L, Siskova M, Maaloufova J, Cermak J, Michalova K: Complex chromosomal rearrangements in adult patients with AML are independent prognostic factor. *Haematol-Hematol J.* 2007;92(1):360. **IF 5,032**

Zemanova Z, Michalova K, **Babicka L**, Jarosova M, Holzerova M, Oltova A, Hrubá M, Muzikova K, Zuna J, Trka J, Mihal V, Sterba J, Formankova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Sary J: Frequency and clinical implications of additional chromosomal aberrations in *ETV6/RUNX1* positive childhood ALL. *Haematol-Hematol J.* 2007;92(1):48. **IF 5,032**

Brezinova J, Zemanova Z, **Babicka L**, Melichercikova J, Houskova L, Tajtlova J, Cermak J, Siskova M, Michalova K: Chromosome 3 aberrations in myeloid malignancies revealed by molecular cytogenetic techniques and their prognostic significance. *Haematol-Hematol J.* 2007;92(1):47. **IF 5,032**

Babicka L, Zemanova Z, Brezinova J, Ransdorfova S, Pavlistova L, Siskova M, Maaloufova J, Cermak J, Michalova K: Molecular cytogenetic study of complex chromosomal rearrangements in adult patients with acute myeloid leukemia (AML). *Chromosome Res.* 2007;15(1):173. **IF 3,07**

Zemanova Z, Michalova K, **Babicka L**, Ransdorfova S, Kramar F, Hrabal P, Kozler P: Non-random genetic abnormalities in recurrent oligodendrocytic tumours: the utility of interphase fluorescence in situ hybridization (I-FISH). *Chromosome Res.* 2007;15(1):183. **IF 3,07**

Brezinova J, Zemanova Z, **Babicka L**, Melichercikova J, Houskova L, Tajtlova J, Cermak J, Siskova M, Michalova K: Molecular cytogenetic mapping of the chromosome 3 rearrangements in patients with hematological malignancies. *Chromosome Res.* 2007;15(1):174. **IF 3,07**

Zemanova Z, Michalova K, **Babicka L**, Pavlistova L, Jarosova M, Holzerova M, Oltova A, Hruby M, Muzikova K, Zuna J, Trka J, Mihal V, Sterba J, Formankova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Stara J: Clinical Relevance of Complex Chromosomal Aberrations in Bone Marrow Cells of 107 Children with *ETV6/RUNX1* Positive Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). *Blood.* 2006;108(11):645a. **IF 10,131**

Kramar F, Zemanova Z, Michalova K, Ransdorfova S, **Babicka L**, Sindelarova L, Brezinova J, Kozler P, Netuka D: Molecular cytogenetic analysis of malignant brain tumor cells. Book of Abstracts - 7th Congress of the European Association for Neuro-Oncology (EANO), Vienna, Austria, 14. – 17. 9. 2006:34.

Michalova K, Zemanova Z, **Babicka L**, Ransdorfova S, Kramar F, Hrabal P, Kozler P: Molecular cytogenetic analysis of malignant brain tumor cells. Abstract Book - 11th International Congress of Human Genetics, Brisbane, Australia, 6.-10.8.2006:159.

Babicka L, Zemanova Z, Pavlistova L, Brezinova J, Moravcova J, Klamova H, Michalova K: Prognostic significance of complex chromosomal rearrangements in patients with chronic myeloid leukemia. *Haematol-Hematol J.* 2006;91(1):218. **IF 4,575**

Brezinova J, Zemanova Z, Melichercikova J, **Babicka L**, Siskova M, Cermak J, Michalova K: Detection of structural aberrations of chromosome 7 in myeloid malignancies using combination of molecular cytogenetic techniques. *Haematol-Hematol J.* 2006;91(1):219. **IF 4,575**

Zemanova Z, Michalova K, **Babicka L**, Ransdorfova S, Melichercikova J, Kramar F, Hrabal P, Kozler P: Contribution of molecular cytogenetic analyses to diagnose and treatment of malignant brain tumours. Abstracts - 10th European Workshop of Molecular Cytogenetics in Human Solid Tumors, Le Grande Motte, France, 8.-11.6.2006:110.

Zemanova Z, Michalova K, **Babicka L**, Oltova A, Jarosova M, Hrubá M, Muzikova J, Sterba J, Mihal V, Sary J: Clinical relevance of additional chromosomal aberrations in bone marrow cells of 94 children with ETV6/AML1 positive acute lymphocytic leukemia. Abstracts - 5th Bi-annual Symposium on Childhood Leukemia, Noordwijkerhout, The Netherlands, 30.4.-2.5.2006:66.

Zemanova Z, **Babicka L**, Ransdorfova S, Pavlistova L, Kramar F, Hrabal P, Kozler P, Kozler P, Michalova K: Molecular cytogenetic analysis of malignant brain tumour cells. J Appl Biomed. 2005;3(1):53.

Březinová J, Ransdorfová Š, Zemanová Z, Pavlišťová L, **Babická L**, Houšková L, Čermák J, Neuwirtová R, Šišková M, Michalová K: Nejčastější cytogenetické nálezy u myelodysplastického syndromu a jejich klinický význam. Sborník Abstrakt - XIV. Slovensko-český hematologický transfuziologický zjazd s mezinárodní účastí, Vysoké Tatry, Slovensko, 29.9.-2.10.2005.

Michalova K, **Babicka L**, Zemanova Z, Brezinova J, Sindelarova L, Ransdorfova S: Characterization of complex chromosomal rearrangements in chronic myeloid leukemia using multicolor FISH. Chromosome Res. 2005;13(1):153. **IF 3,07**

Zemanova Z, Michalova K, Rnsdorfova S, **Babicka L**, Sindelarova L, Brezinova J, Kramar F, Kozler P: Molecular cytogenetics analysis of malignant brain tumor cells. Chromosome Res. 2005;13(1):88. **IF 3,07**

Babicka L, Zemanova Z, Michalova K, Sindelarova L, Brezinova J, Oltova A, Mentzelova M., Jarosova M., Holzerova M., Hrubá M., Skuhrovcova J, Muzikova K, Formakova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Sary J: Prognostic significance of additional chromosomal aberrations in children with ETV6-AML1 positive acute lymphoblastic leukemia. Haematol-Hematol J. 2005;90(2):217. **IF 4,192**

Sindelarova L, Zemanova Z, **Babicka L**, Brezinova J, Ransdorfova S, Houskova L, Michalova K: Detection of chromosomal changes in plasma cells by interphase fluorescence in situ hybridization in patients with multiple myeloma. Eur J Hum Genet. 2005,13(1):199. **IF 3,251**

Michalova K, Zemanova Z, Sindelarova L, **Babicka L**, Ransdorfova S, Brezinova J, Oltova A, Mentzelova M, Jarosova M, Holzerova M, Muzikova K, Formankova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Sary J: Significance of additional chromosomal aberrations in bone marrow cells of children with TEL/AML1 positive acute lymphocytic leukemia. Eur J Hum Genet. 2005,13(1):198. **IF 3,251**

Zemanova Z, Michalova K, Ransdorfova S, **Babicka L**, Sindelarova L, Brezinova J, Kramar F, Kozler P: Molecular cytogenetic analyses of malignant brain tumour cells. Eur J Hum Genet. 2005,13(1):198. **IF 3,251**

Brezinova J, Ransdorfova S, Zemanova Z, Sindelarova L, **Babicka L**, Cermak J, Michalova K: Combination of various molecular cytogenetic techniques in detection of structural rearrangements of chromosome 7 in hematological malignancies. *Eur J Hum Genet.* 2005;13(1):195. **IF 3,251**

Brezinova J, Ransdorfov S, Zemanova Z, Pavlistova L, **Babicka L**, Houskova L, Cermak J, Michalova K: Structural rearrangements of chromosome 3 in hematological malignancies revealed by molecular cytogenetic techniques. *Chromosome Res.* 2005;13(1):154. **IF 3,07**

Babicka L, Zemanova Z, Sindelarova L, Brezinova J, Ransdorfova S, Michalova K: Complex chromosomal rearrangement in patients with chronic myeloid leukemia. Abstract Book - Leiden International Medical Student Congress, Leiden, The Netherlands, 7.-9.4.2005.

Zemanova Z, Michalova K, Sindelarova L, **Babicka L**, Brezinová J, Ransdorfova S, Smisek P, Stary J: Prognostic significance of structural chromosomal rearrangements in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and high hyperdiploidy. *Haematol-Hematol J.* 2004;5(2):77. **IF 3,453**

Ransdorfova S, Brezinova J, Zemanova Z, Sindelarova L, **Babicka L**, Siskova M, Cermak J, Stary J, Michalova K: 11q aberrations in patient with hematological malignancies. *Haematol-Hematol J.* 2004;5(2):256. **IF 3,453**

Brezinova J, Zemanova Z, Ransdorfova S, Sindelarova L, **Babicka L**, Siskova M, Stary J, Cermak J, Michalova K: Deletions and structural rearrangements of chromosome 7 in hematological malignancies. *Haematol-Hematol J.* 2004;5(2):256. **IF 3,453**

Přednášky v zahraničí:

Lizcova L: Molecular cytogenetics methods in diagnostics and management of hemato-oncology diseases. Abbott Molecular - Vysis user meeting. Tel Aviv, Izrael, 30.6.2010.

Lizcova L: Molecular cytogenetic analysis of immunofluorescently labeled plasma cells in Multiple Myeloma. Abbott Molecular - Vysis user meeting. Tel Aviv, Izrael, 30.6.2010.

Lizcova L: Oncocytogenetics and clinical applications of FISH in hematological malignancies. Abbott Molecular - Vysis distributors meeting, Frankfurt, Germany, 9.3.2010.

Pavlistova L, **Babicka L**, Zemanova Z, Spicka E, Gregora E, Michalova K: Molecular cytogenetic study of multiple myeloma. XXXth World congress of the International Society of Hematology. Istanbul, Turkey. 28.9.-2.10.2005. *Turk J Hematol.* 2005;22:61. **Babicka L. - presenting author.**

Zemanova Z, **Babicka L**, Michalova K, Pavlistova L., Oltova A, Mentzlova D, Jarosova M, Holzerova M, Hrubá M, Skuhrovcova J., Muzikova K, Formankova R, Sedlacek P, Vrzalova A, Stary J: Incidence and clinical relevance of complex chromosomal aberrations in a series of 88 children with ETV6-AML1 positive acute lymphoblastic leukemia. XXXth World congress of the International Society of Hematology. Istanbul, Turkey. 28.9.-2.10.2005. Turk J Hematol. 2005;22:98.

Abstrakta na konferencích v ČR:

Zuna J, Žaliová M, Mužíková K, Meyer C, **Lizcová L**, Zemanová Z, Březinová J, Votava F, Marschalek R, Starý J, Trka J: Akutní leukemie s fusí TEL/ABL: špatná prognosa a prenatální původ. Konference dětských hematologů a onkologů, 20.-22.11.2009, Košice.

Mejstříková E, Sumerauer D, Seeman T, Froňková E, Zemanová Z, **Lizcová L**, Sedláček P, Smíšek P, Mužíková K, Pospíšilová K, Hubáček P, Trka J, Janda A, Kodet R, Čapková L, Starý J, Kabíčková E, Hrušák O: TCR gama/delta T lymfoproliferace v předchorobí fatálně probíhajícího hepatosplenického lymfomu u 16leté pacientky po transplantaci ledviny. Transfuz Hemat dnes. 2009;15(1):62.

Izáková S, Březinová J, Šárová I, Včelíková S, Zemanová Z, **Lizcová L**, Zemanová M, Berková A, Grosová L, Malinová E, Cmunt E, Karban J, Schwarz J, Michalová K: Význam délky telomér a porovnanie s molekulárne cytogenetickými metodami u pacientov s B-CLL. Transfuz Hemat dnes. 2009;15(s1):47.

Zdráhalová K, Mejstříková E, Froňková E, Zuna J, Hrušák O, Trka J, Zemanová Z, **Lizcová L**, Sedláček P, Starý J: Biologické a imunologické prognostické faktory u dětí s T-ALL. XVIII. Konference dětských hematologů a onkologů České a Slovenské republiky, Plzeň 21.-23.11.2008.

Michalová K, Zemanová Z, Březinová J, **Babická L**, Izáková S, Šišková M, Neuwirtová R, Čermák J: Klinický význam komplexních chromozomových aberací u nemocných s MDS. Transfuz Hemat dnes. 2008;14(2):62.

Berková A, Pavlišťová L, Březinová J, **Babická L**, Malinová E, Grosová L, Tajtlová J, Cmunt E, Schwarz J, Marinov I, Karban J, Trněný M, Zemanová Z, Michalová K: Sledování klonálního vývoje u B-CLL metodou I-FISH. Vnitř Lék. 2008;54(5):51.

Izáková S, Březinová J, Zemanová Z, **Babická L**, Maaloufová J, Michalová K: Amplifikácia MLL génu u pacienta s akútnou myeloidnou leukémiou (AML). Vnitř Lék. 2008;54(5):74.

Tajtlová J, Zemanová Z, Březinová J, **Babická L**, Pavlišťová L, Špička I, Gregora E, Čermák J, Zounar R, Michalová K: Komplexní změny karyotypu u pacientů s mnohočetným myelomem (MM). Vnitř Lék. 2008;54(5):72.

Babická L, Zemanová Z, Malinová E, Berková A, Tajtlová J, Zuna J, Mejstříková E, Starý J, Michalová K: Molekulární cytogenetika v diagnostice dětských ALL. Sborník abstrakt – XVII. Konference dětských hematologů a onkologů České a Slovenské republiky s mezinárodní účastí, Špindlerův Mlýn, 16.-18.11.2007:37.

Berková A, Pavlišťová L, **Babická L**, Houšková L, Tajtlová J, Cmunt E, Karban J, Březinová J, Zemanová Z, Michalová K: Studie strukturních aberací IgH genu metodou I-FISH. Sborník abstrakt - XXI. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 16.-19.6.2007:41.

Březinová J, Zemanová Z, **Babická L**, Melicherčíková J, Houšková L, Tajtlová J, Čermák J, Šišková M, Michalová K: Význam strukturních přestaveb chromosomu 3 u nemocných s myeloidními malignitami. Sborník abstrakt - XXI. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 16.-19.6.2007:21.

Babická L, Zemanová Z, Kramář F, Ransdorfová Š, Melicherčíková J, Hrabal P, Kozler P, Michalová K: Význam molekulárně cytogenetické analýzy nádorových buněk pro diagnostiku a léčbu oligodendrogliomů. Abstrakta - II. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 7.-9.12.2006:36.

Březinová J, Zemanová Z, Melicherčíková J, Pavlišťová L, **Babická L**, Šišková M, Čermák J, Michalová K: Incidence a prognostický význam chromozomových změn u myelodysplastického syndromu. Abstrakta - II. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 7.-9.12.2006:22.

Babická L, Zemanová Z, Šindelářová L, Březinová J, Ransdorfová Š, Klamová H, Šišková M, Michalová K: Komplexní změny karyotypu u nemocných s chronickou myeloidní leukemií. Sborník abstrakt - XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 15-18.6.2005:67.

Babická L, Ransdorfová Š, Březinová J, Zemanová Z, Pavlišťová L, Šišková M, Maaloufová J, Čermák J, Michalová K: Komplexní přestavby chromosomů u dospělých nemocných s MDS a AML jsou špatným prognostickým faktorem. Sborník abstrakt - XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 31.5.-3.6.2006:25.

Březinová J, Zemanová Z, Melicherčíková J, Pavlišťová L, **Babická L**, Šišková M, Čermák J, Michalová K: Význam strukturních přestaveb chromosomu 7 u nemocných s maligním onemocněním myeloidní řady. Sborník abstrakt - XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 31.5.-3.6.2006:26.

Babická L, Zemanová Z, Kramář F, Ransdorfová Š, Hrabal P, Kozler P, Michalová K: Detekce chromosomových aberací v buňkách difúzních gliomů metodami molekulární cytogeneticky a jejich přínos pro diagnostiku a léčbu. Abstrakta - 7. Studentská vědecká konference, Praha, 22.5.2006:29.

Babická L, Zemanová Z, Kramář F, Ransdorfová Š, Hrabal P, Kozler P, Michalová K: Molekulárně cytogenetická analýza buněk difúzních gliomů a její přínos pro diagnostiku a léčbu. Edukační sborník - XXX. Brněnské onkologické dny, Brno, 11.-13.5.2006:231.

Kramář F, Zemanová Z, **Babická L**, Ransdorfová Š, Šindelářová L, Březinová J, Michalová K, Hrabal P, Kozler P.: Molekulárně cytogenetická analýza buněk mozkových tumorů. Abstrakta - Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 9.-10.12.2005:15.

Zemanová Z, Michalová K, **Babická L**, Pavlišťová L, Oltová A, Mentolová D, Jarošová M, Holzerová M, Hrubá M, Skuhrovcová J, Mužíková K, Formánková R, Sedláček P, Vrzalová A, Štěrbá J, Mihál V, Černá Z, Starý J: Frekvence a klinický význam komplexních chromosomových aberací v souboru 88 dětí s TEL/AML1 pozitivní akutní lymfoblastickou leukémií (ALL). Abstrakta - 15. konference dětských hematologů a onkologů ČR a SR, České Budějovice, 4.-6.11.2005:30.

Šindelářová L, Zemanová Z, **Babická L**, Houšková L, Březinová J, Ransdorfová Š, Špička I, Gregora E, Michalová K: Molekulárně cytogenetická analýza značených plazmatických buněk u nemocných s mnohočetným myelomem. Sborník abstrakt - XIX. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 15-18.6.2005:87.

Březinová J, Ransdorfová Š, Zemanová Z, Šindelářová L, **Babická L**, Šišková M, Maaloufová J, Čermák J, Michalová K: Analýza komplexních přestaveb karyotypu nemocných s akutní myeloidní leukémií metodou mFISH. Sborník abstrakt - XIX. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 15-18.6.2005:102.

Zemanová Z, Michalová K, Šindelářová L, Ransdorfová Š, Březinová J, **Babická L**, Mužíková K, Formánková R, Sedláček P, Starý J: Význam dalších chromosomových aberací v buňkách kostní dřeně u dětí s TEL/AML1 pozitivní ALL. Sborník abstrakt - XIV. Pracovní konference dětských hematologů a onkologů ČR a SR, Průhonice 5.-7.11.2004.

Březinová J, Ransdorfová Š, Zemanová Z, Šindelářová L, **Babická L**, Šišková M, Čermák J, Starý J, Michalová K: Delece a přestavby dlouhých ramen chromosomu 7 u leukémií a preleukémií. Sborník abstrakt – XVIII. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc 2.-5.6.2004:67.

Ransdorfová Š, Březinová J, Zemanová Z, Šindelářová L, **Babická L**, Šišková M, Čermák J, Starý J, Michalová K: Přestavby dlouhých ramen chromosomu 11 a MLL genu u nemocných s leukémiemi. Sborník abstrakt – XVIII. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 2.-5.6.2004:66.

Přednášky (bez abstrakt) na konferencích v ČR:

Lizcová L, Zemanová Z, Malinová E, Gančarčíková M, Berková A, Grosová L, Bystřická D, Březinová J, Šárová I, Izáková S, Smíšek P, Starý J, Michalová K: Jumping translokace v buňkách kostní dřeně u dětských pacientů s hematologickými malignitami. VIII. Hradecký cytogenetický den, Hradec Králové, 14.4.2010.

Malinová E, **Lizcová L**, Zemanová Z, Berková A, Smíšek P, Starý J, Michalová K: Isochromosom 9q10 u dětských pacientů s T buněčnou akutní lymfoblastickou leukémií (T-ALL). VIII. Hradecký cytogenetický den, Hradec Králové, 14.4.2010.

Gančarčíková M, Zemanová Z, **Lizcová L**, Březinová J, Malinová E, Grosová L, Bystřická D, Izáková S, Šárová I, Michalová K: Variantní Ph translokace u chronické myeloidní leukémie (CML): geneze a prognóza. VIII. Hradecký cytogenetický den, Hradec Králové, 14.4.2010.

Šárová I, Březinová J, Izáková S, Malinová E, Zemanová Z, **Lizcová L**, Michalová K: Translokace chromosomu 11 u nemocných s akutní myeloidní leukémií. VIII. Hradecký cytogenetický den, Hradec Králové, 14.4.2010.

Bystřická D, Zemanová Z, Gančarčíková M, Březinová J, Grosová L, Malinová E, Berková A, **Lizcová L**, Izáková S, Šárová I, Michalová K: Retrospektivní studie komplexních karyotypů u 50 pacientů s myelodysplastickými syndromy pomocí technik microarray. VIII. Hradecký cytogenetický den, Hradec Králové, 14.4.2010.

Lizcová L, Březinová J, Zemanová Z, Michalová K: Cytogenetické vyšetření u myeloproliferací. IV. Brněnské hematologické dny, Brno, 4.-5.11.2009.

Lizcová L, Zemanová Z, Ransdorfová Š, Kramář F, Hrabal P, Matuchová L, Michalová K: Význam molekulárně cytogenetické analýzy u oligodendroglálních tumorů. 42. Výroční cytogenetická konference, Brno, 10.-11.9.2009.

Malinová E, **Lizcová L**, Zemanová Z, Jarošová M, Šindelářová I, Gančarčíková M, Smíšek P, Suková M, Mejstříková E, Hrušák O, Starý J, Michalová K: Nová rekurentní aberace der(7)del(7)(p11pter)del(7)(q11qter) u dětských pacientů s myelodysplastickým syndromem. 42. Výroční cytogenetická konference, Brno, 10.-11.9.2009.

Izáková S, Březinová J, Zemanová Z, Šárová I, **Lizcová L**, Gančarčíková M, Michalová K: Isochromosom 5p: ojediněle se opakující nález u myeloidních leukémií. 42. Výroční cytogenetická konference, Brno, 10.-11.9.2009.

Šárová I, Březinová J, Izáková S, Zemanová Z, **Lizcová L**, Malinová E, Čermák J, Polívka J, Vydra J, Šišková M, Michalová K: Amplifikace chromosomu 11 u nemocných s akutní myeloidní leukémií. 42. Výroční cytogenetická konference, Brno, 10.-11.9.2009.

Lizcová L: Molekulární cytogenetika nádorových onemocnění. Seminář ÚKB LD VFN a 1.LF UK, Praha, 6.11.2008.

Lizcová L, Zemanová Z, Malinová E, Březinová J, Izáková S, Zuna J, Michalová K: Translokace t(9;12)(q34;p13) s fúzním genem *ETV6/ABL1* v buňkách kostní dřeně u nemocných s akutní lymfoblastickou leukémií. 41. výroční cytogenetická konference s mezinárodní účastí, Olomouc, 11. – 12. 9. 2008.

Berková A, **Lizcová L**, Malinová E, Březinová J, Izáková S, Tajtlová J, Grosová L, Zemanová Z, Michalová K: Prognostická implikace klonálního vývoje u pacientů s CLL. 41. výroční cytogenetická konference s mezinárodní účastí, Olomouc, 11. – 12. 9. 2008.

Malinová E, Zemanová Z, **Lizcová L**, Tajtlová J, Březinová J, Zemanová M, Michalová K: Zajímavá přestavba chromosomu 7 u nemocných s leukémií a preleukémií. 41. výroční cytogenetická konference s mezinárodní účastí, Olomouc, 11. – 12. 9. 2008.

Babická L, Ransdorfová Š, Zemanová Z, Březinová J, Michalová K: Ztráta Y chromosomu u mužů s hematologickými malignitami. VII. Hradecký den cytogenetiky a molekulární genetiky, Hradec Králové, 16.4.2008.

Izáková S, Březinová J, Zemanová Z, **Babická L**, Klamová H, Michalová K: Zajímavé přestavby Ph chromosomu. VII. Hradecký den cytogenetiky a molekulární genetiky, Hradec Králové, 16.4.2008.

Šárová I, Březinová J, Zemanová Z, Izáková S, **Babická L**, Čermák J, Maaloufová J, Michalová K: Přestavby MLL genů u pacientů s akutní myeloidní leukémií. VII. Hradecký den cytogenetiky a molekulární genetiky, Hradec Králové, 16.4.2008.

Babická L, Zemanová Z, Malinová E, Berková A, Tajtlová J, Michalová K: Molekulárně cytogenetická analýza leukemických buněk u dětských T-ALL. Celostátní sjezd společnosti lékařské genetiky ČLS JEP a 40. výroční cytogenetická konference, Praha, 19.-21.9.2007:17.

Březinová J, Zemanová Z, **Babická L**, Izáková S, Čermák J, Šišková M, Michalová K: Komplexní přestavby chromosomů u myelodysplastického syndromu. Celostátní sjezd společnosti lékařské genetiky ČLS JEP a 40. výroční cytogenetická konference, Praha, 19.-21.9.2007:18.

Babická L, Zemanová Z, Pavlišťová L, Tajtlová J, Houšková L, Březinová J, Melicherčíková J, Michalová K: Diagnostika dětských ALL. 39. Výroční konference cytogenetické sekce, České Budějovice, 14.-15.9.2006.

Pavlišťová L, Tajtlová J, **Babická L**, Houšková L, Březinová J, Zemanová Z, Michalová K: I-FISH u nemocných s B-CLL. 39. Výroční konference cytogenetické sekce, České Budějovice, 14.-15.9.2006.

Melicherčíková J, Houšková L, **Babická L**, Zemanová Z, Kramář F, Kozler P, Michalová K: Jak může komparativní genomová hybridizace přispět k diagnostice mozkových nádorů. VI. Hradecký den cytogenetiky a molekulární genetiky, Hradec Králové, 12.4.2006.

Babická L, Zemanová Z, Březinová J, Michalová K: Využití metody mFISH a mBAND při analýze komplexních přestaveb karyotypu. Symposium „Novinky v klinické genetice“, Průhonice, 25.9.2005.

Babická L, Zemanová Z, Šindelářová L, Březinová J, Ransdorfová Š, Michalová K: Analýza komplexních chromosomových přestaveb u nemocných s chronickou myeloidní leukemií metodou mFISH. 38. Výroční konference cytogenetické sekce, Brno, 8.-9.9.2005.

Zemanová Z, **Babická L**, Kramář F, Rnsdorfová Š, Šindelářová L, Březinová J, Hrabal P, Kozler P, Michalová K: Molekulárně cytogenetická analýza buněk mozkových tumorů. 38. Výroční konference cytogenetické sekce, Brno, 8.-9.9.2005.

Pavlišťová L, Zemanová Z, **Babická L**, Houšková L, Březinová J, Ransdorfová Š, Michalová K: Detekce chromosomových změn u nemocných s mnohočetným myelomem metodou FISH. 38. Výroční konference cytogenetické sekce, Brno, 8.-9.9 2005.

Březinová J, Ransdorfová Š, Zemanová Z, Pavlišťová L, **Babická L**, Houšková L, Čermák J, Michalová K: Detekce strukturních přestaveb chromosomu 3 u hematologických malignit molekulárně cytogenetickými metodami. 38. Výroční konference cytogenetické sekce, Brno, 8.-9.9 2005.

Babická L, Zemanová Z, Šindelářová L, Březinová J, Ransdorfová Š, Michalová K: Komplexní změny karyotypu u nemocných s chronickou myeloidní leukemií (CML). V. Hradecký den cytogenetiky a molekulární genetiky, Hradec Králové, 14.4.2004.

Ransdorfová Š, Březinová J, Zemanová Z, Šindelářová L, **Babická L**, Čermák J, Michalová K: Přestavby 11q a MLL genu u nemocných s leukémiemi. V. Hradecký den cytogenetiky a molekulární genetiky, Hradec Králové, 14.4.2004.