

DETEKCE A VÝSKYT CHROMOZOMÁLNÍCH ABERACÍ U ZHOUBNÝCH NÁDORŮ DĚLOŽNÍHO HRDLA A VAJEČNÍKU

DETECTION AND OCCURENCE OF THE CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN MALIGNANT TUMOURS OF CERVIX AND OVARY.

KRKAJCOVÁ M.¹, JANČÁRKOVÁ N.², JANASHIA M.¹, KRÍTKOVÁ A.¹, PEXIDROVÁ M.¹,
KOHOUTOVÁ M.¹

¹ÚSTAV BIOLOGIE A LÉKAŘSKÉ GENETIKY I.LF UK A VFN V PRAZE

²GYNEK.-POROD. KLINIKA I.LF UK A VFN V PRAZE

Souhrn: Karcinom děložního hrdla je druhým nejčastějším zhoubným nádorem u žen v celosvětovém měřítku. I přes dobře definované a známé přednádorové stavy a dostupné metody jejich detekce je výskyt tohoto nádoru stále vysoký. V etiologii hraje významnou roli HPV (human papilloma virus) infekce. Incidence tohoto nádoru v České republice je daleko vyšší než v ostatních rozvinutých zemích. Karcinom ovaria je onemocnění s nejvyšší mortalitou mezi gynekologickými zhoubnými nádory. Etiologie není zcela známá, předpokládá se mnoho-
stupňový proces spojený s nahromaděním genetických změn postihující onkogeny, tumor-supresorové geny a mutátorové geny, které hrají klíčovou roli v buněčné regulaci. Cytogenetické a molekulárně genetické charakteristiky nádorů v korelaci s ostatními molekulárně biologickými parametry upřesňují znalosti o karcinogenezi. Konečným cílem je vytvoření prediktivního modelu pro klinickou praxi. V článku je podán přehled současných znalostí o genetických aspektech cervikálních a ovariálních karcinomů.

Klíčová slova: karcinom děložního hrdla, karcinom ovaria, chromozomální aberace, genetické alterace, cytogenetika.

Summary: Cancer of the cervix is the second most common cancer among women worldwide. In spite of well-defined premalignant lesions as well as available and effective methods of their detection, the incidence of the tumour is still high. The incidence of cervical cancer in Czech women is much higher than in other developed countries. Ovarian cancer represents the most lethal malignancy among gynecological tumours. Etiology is still largely unknown. A multistep process is supposed, with accumulation of genetic alterations concerning factors with key role in cell regulation - oncogenes, tumor-suppressor genes and mismatch-repair genes. Cytogenetic and molecular genetic characteristics of the tumours in correlation with other molecular biological parameters increase knowledge of carcinogenesis. The final aim is to create a predictive model for clinical practice. The review presents contemporary information about genetic aspects of cervical and ovarian cancer.

Key words: cervical carcinoma, ovarian carcinoma, chromosomal aberrations, genetic alterations, cytogenetics.

Cytogenetické a molekulárně biologické markery u solidních nádorů představují nový prvek v klinické onkologii posledních let. Jejich význam spočívá v tom, že umožňují hlubší poznání nádoru samotného a jeho charakteristik. Implementace těchto poznatků jak směrem diagnostickým, tak i směrem terapeutickým by měla vést k uplatnění preciznějších a více individualizovaných postupů v oblasti detekce, skríningu, predikce, prognózy a také monitorování aktivity nádorového onemocnění (1).

Karcinom děložního hrdla představuje druhý nejčastější zhoubný nádor u žen v celosvětovém měřítku. Ročně je diagnostikováno přibližně 470 000 nových případů onemocnění, 230 000 žen v souvislosti s tímto onemocněním umírá. Více než 80% případů se vykytuje v rozvojových zemích. Pětileté přežití dosahuje až 70% žen, v rozvojových zemích pouze 40% žen. I přesto, že existují dobře definovaná, relativně dlouho se

vyvíjející a léčitelná předstada a poměrně spolehlivé a dostupné metody jejich detekce (kolposkopie, onkologická cytologie), velký počet nádorů je diagnostikován v pokročilých stádiích. Významným faktorem ve vývoji cervikálního karcinomu je infekce onkogenním typem lidského papilomaviru (HPV). Místo integrace HPV je významné pro studium genomických oblastí vedoucích k HPV indukované patogenezi. Nejčastějším histopatologickým typem je dlaždicobuněčný karcinom, který představuje až 85% případů, podstatně menší skupinu tvoří adenokarcinomy, výskyt neepitelových nádorů je sporadický. Incidence nádoru v České republice je mnohem vyšší než v jiných rozvinutých zemích.

Zhoubné nádory ovaria patří mezi nejčastější příčiny úmrtí na gynekologické zhoubné nádory a představují přibližně 30% všech nádorů ženské reprodukční soustavy. V úmrtnosti na všechny zhoubné nádory žen zaujímají 4. místo. Ve více než

75% případů je toto onemocnění diagnostikováno v pokročilých stadiích. Nejsou definované přednádorové stavy. Neexistuje efektivní skrínig. I přes vysoké procento léčebných odpovědí na primární léčbu dochází u více než 80% případů k recidivám. Ročně je ve světě diagnostikováno přibližně 190 000 nových případů ovariálního karcinomu, úmrtí v souvislosti s tímto nádorem je evidováno ročně asi 114 000. Převážná část ovariálních zhoubných nádorů je původem z povrchového epitelu, patří mezi ně karcinom serózní, mucinózní, endometroidní, mezonefroidní a vzácný Brennerův tumor. Neepitelové nádory včetně germinálních tumorů, nádorů ze zárodečných pruhů a metastatické nádory jsou méně časté (2). Ovariální nádory se ve většině případů vyskytují u žen sporadicky, bez pozitivní rodinné anamnézy. Maligní transformace je zde vyvolána pouze somatickými mutacemi. V nádorové tkáni mohou být mutovány jak protoonkogeny, tak tumor-supresorové geny nebo mutátorové geny. Jenom malá část všech karcinomů ovaria (5- 10%) je geneticky podmíněna.

Hereditární karcinom se vyskytuje jako součást jednoho ze tří autozomálně dominantních syndromů: 1. vlastní familiární ovariální karcinom, 2. familiární karcinom prsu a ovaria 3. syndrom hereditárního nepolypozního kolorektálního karcinomu a karcinomu ovaria (HNPCC) (3, 4, 5, 6).

Celkové pětileté přežití žen se zhoubným nádorem ovaria (pro všechna stadia) představuje v Evropě 32%, u pokročilých stadií ovšem nepřekračuje 20%.

Mohutný rozvoj molekulární biologie a genetiky v posledních dvou desetiletích umožnil díky novým poznatkům objasnit celou řadu mechanismů účastnících se při vzniku procesu nádorové transformace a regulačních pochodů spojených s abnormálním růstem a proliferací buněk. Tyto objevy umožňují přesunout pozornost od epidemiologických dat a klinických pozorování k důkladnějšímu a hlubšímu poznání nádoru samotného a jeho biologických parametrů. To by v konečném důsledku mělo vést ke zvýšení efektivity onkologické léčby. Je pravděpodobné, že i dosavadní léčebný arzenál aplikovaný cíleně podle biologických charakteristik má stále značný potenciál zlepšit léčebné výsledky (7).

Samotný proces vzniku a vývoje nádoru je ve všech případech multifaktoriální a vícestupňový proces. Zásadní význam při vzniku nádorových onemocnění mají následující skupiny genů: protoonkogeny a tumor-supresorové geny, které ovlivňují regulaci buněčného cyklu, mutátorové geny, které kontrolují stabilitu buněčného genomu a také geny ovládající programovanou buněčnou smrt (geny apoptotické kaskády) (8).

V literatuře je popsáno více než 200 genů, jejichž variabilní alterace jsou přítomny v různých typech lidských karcinomů. Problematika cytogenetických a molekulárně-cytogenetických změn je u solidních nádorů prostudována daleko méně než u hematologických malignit.

Jejich studium umožnil rozvoj a zavedení do praxe molekulárně-cytogenetických metod, jako jsou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) s použitím lokus-specifických a centromerických sond a také dvoubarevná a vícebarevná FISH a dále metoda komparativní genomové hybridizace (CGH), která patří mezi nejmodernější metody výzkumu genomu nádorových buněk.

Základní a stále hojně využívanou cytogenetickou metodou, nejen v onkologii, zůstává klasické G-pruhování, poskytující základní informace o karyotypu včetně chromozomálních přestaveb, ačkoli jsou jeho možnosti limitovány.

Princip hybridizačních metod (FISH, SKY, mFISH, CGH) je založen na schopnosti jednořetězcové DNA (sonda) vázat se s komplementárními úseky cílové DNA. Sondy jsou značeny přímo fluorochromy a po hybridizaci a dalším ošetření lze preparáty hodnotit pomocí fluorescenčního mikroskopu vybaveného příslušnými filtry.

Fluorescenční in situ hybridizace je vhodnou metodou ke zjišťování počtu jednotlivých chromozomů, na rozdíl od komparativní genomové hybridizace (CGH), která hodnotí

relativní změny v počtu kopií. CGH tedy nelze použít ke zjišťování ploidie a balancovaných chromozomálních přestaveb. U solidních nádorů je častý výskyt polyploidních karyotypů, na rozdíl od hematologických malignit, kde jsou časté balancované translokace. Je vhodné proto použít jako doplněk ke zjištění stavu ploidie, například právě FISH či průtokovou cytofluorometrii.

Komparativní genomová hybridizace (CGH) je molekulární genetická metoda, která je založena na in situ hybridizaci odlišné značené celkové genomové DNA z nádoru a referenční genomové DNA na preparát s normálními metafázickými chromozomy. Poměr intenzity fluorescence nádorové a referenční DNA měřený v každém lokusu podél chromozomu, udává numerické změny v DNA (sequence copy number changes, gains, losses), např. poměr 0,5 značí monosomii, 1,5 trisomii apod. V jedné hybridizaci tak lze detekovat nebalancované přestavby (delece, amplifikace) všech chromozomů. Výhoda této metody spočívá v tom, že k analýze nejsou potřeba chromozomální preparáty z nádoru, které je často obtížné získat, ale pouze izolovaná nádorová DNA. Nevýhodou je, že tato metoda detekuje pouze početní změny ve struktuře chromozomů, neodhalí translokace, inverze a jiné balancované přestavby. Z analýz je třeba vyloučit GC bohaté oblasti (heterochromatin). Další nevýhodou je komplikované využití CGH pro rutinní diagnostické testování. Tuto nevýhodu překonává použití CGH na DNA microarrays, tzv. matrix-CGH (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16).

Studie zaměřené na detekci genetických alterací v buňkách karcinomu děložního hrdla přinesly v posledních letech celou řadu poznatků, především z výzkumu dlaždicobuněčných karcinomů.

Tanke et al. zjišťovali na buněčných liniích pocházejících z pěti cervikálních nádorů, místa integrace viru a karyotypové změny pomocí COBRA-FISH (multicolor Combined Binary Ratio-FISH). HPV-16 byl detekován v blízkosti t(3p14.1-14.3; 14), místa zlomu u spinocelulárního karcinomu, HPV-45 se integroval poblíž 3q26-29; 1q21-23; t(1q21; 22q13) místa zlomu u adenokarcinomu nebo adenoskvamosního karcinomu, HPV-67 u t(3p23-26; 13q22-31) místa zlomu. Nejvíce přestavěny byly chromozomy 3, 7, 15, 20 (17). Rovněž metodou COBRA-FISH, skupina Brink et al., zjišťovala integrační místa HPV-16 a 18, a to v pěti kulturách primárních cervikálních karcinomů. U dvou karcinomů byl HPV integrován v 17q21-23, u jednoho v místě 1q42 a u dalších dvou v 8q24 - integrace poblíž translokačního místa zlomu (18). Integrace HPV-18 v 8q24 byla publikována již dříve (19, 20). Zimonjic et al. zjišťovali pomocí G-pruhování a FISH chromozomální aberace ve dvou HPV-negativních buněčných liniích. U obou byly zjištěny translokace na chromozomu 1 a částečná či úplná ztráta krátkého raménka chromozomu 9, stejně jako ztráta chromozomu 13. U linie HT-3 byly nalezeny přestavby a delece chromozomů 1p, 3p, 9p, 10q/p, 11p/q a 17p, tedy v oblastech, kde byly nalezeny tumor supresorové geny (21). Pomocí konvenčního G-pruhování byl skupinou Atkin et al. nalezeny strukturální přestavby na chromozomu 1 (delece, translokace a izochromozomy). Tyto změny byly nalezeny u více než 95% nádorů. Jako nejčastější numerické změny cervikálních nádorových buněk byly detekovány aneuzomie a polyploidie chromozomu 1 (22). Thein et al. provedli molekulárně-cytogenetickou analýzu pěti cervikálních buněčných linií reprezentujících stadia IB, IIA, IIB-HPV+ a III-HPV-. Kombinační G-pruhování a fluorescenční in situ hybridizace odhalily ve všech pěti liniích přestavby na chromozomech 1, 3. Místa zlomu u spinocelulárních linií byla vždy na 3q, ale v různých oblastech. Ve čtyřech liniích na chromozomu 9, kde místa zlomu byla v oblasti tumor-supresorového genu (MTS-1) v 9p21-22 (Kamb et al., 1994). V jedné linii byla nalezena del(5q), v jiné t(X;5). Strukturální změny 11q byly nalezeny ve dvou případech (23).

U pacientek s cervikální intraepiteliální lézí (CIN) byla u LSIL

lézí (low-grade squamous intraepithelial lesion) nalezena v 41,2% trizomie 7 a v 35,5% trizomie X. U HSIL lézí (high-grade squamous intraepithelial lesion) se trizomie 7 vyskytovala u 79,3% případů a trizomie X v 48,2% případů. Trizomie chromozomu 3 byla pozorována pouze ve spojení s trizomií chromozomu 7. I v tomto případě byl patrný trend trizomie od LSIL (20%) k HSIL (40,0%) lézím (24). Heselmeyer-Haddad et al. došli k závěru, že nadbytek (gain) chromozomového raménka 3q nastává v případě přechodu premaligních lézí v invazivní karcinom. Už v předchozích pracích zjistili, že nadbytky některých chromozomů jsou častější u pokročilých stadií (IIB-IV). Nejčastější amplifikace byly pozorovány na chromozomech 3q (77%), 1q (47%), 5p (30%), 6p (27%), 20 (23%). Časté delece byly mapovány na 2q (33%), 3p (50%), 4 (33%), 8p (23%), 13q (27%). Ve většině případů byla detekována přítomnost HPV. U složitějších aberací byla pozorována vyšší proliferativní aktivita. Tato studie potvrzuje důležitost aberace 3q při cervikální karcinogenezi a dokládá časté amplifikace chromozomů 1q, 3q a 5p u pokročilých stadií cervikálních karcinomů (25). Kombinací metod CGH, SKY a FISH byla provedena analýza osmi cervikálních buněčných linií. Spektrálním karyotypováním (SKY) byly detekovány opakovaně tyto přestavby: der(5)t(5;8)(p13;q23) a i(5)(p10); delece na 5p11, 5q11 a 11q23; a místa zlomu 2q31, 3p10, 3q25, 5p13, 5q11, 7q11.2, 7q22, 8p11.2, 8q11.2, 10p11.2, 11p11.2, 14q10, 15q10, 18q21 a 22q11.2. FISH byla použita k detekci míst integrace HPV-16 (26). Heselmeyer-Haddad et al. zkoumali pomocí mFISH, zda nadbytek 3q a amplifikace genu TERC (telomerase gene) mohou předpovídat progresi z CIN1/CIN2 k CIN3 a invazivnímu karcinomu. Měli tři typy vzorků: CIN1/CIN2 vedoucí k CIN3 (progressors), CIN1/CIN2 vedoucí spontánně k regresii (regressors) a normální cytologické nálezy u žen, u kterých se později vyvinula CIN3 nebo karcinom děložního hrdla. U „progressorů“ byl nalezen nadbytek 3q, zatímco u „regresorů“ nikoliv. Nadbytek 3q byl nalezen u 33% normálních cytologických nálezu, u kterých byla později diagnostikována CIN3 či invazivní cervikální karcinom. Detekce 3q a TERC amplifikace by mohla sloužit jako diagnostická metoda a mohla by pomoci tam, kde je cytologický screening falešně negativní (27, 28). Kirchoff et al. analyzovali 17 případů cervikálních intraepiteliálních lézí (CIN) a 29 případů pokročilých spinocelulárních karcinomů pomocí CGH. V obou skupinách zaznamenali srovnatelný výskyt aberací, z nichž nejčastější u karcinomů byly amplifikace 3q (72%), 1q (45%), 8q (41%), 15q (41%), 5p (34%) a Xq (34%) a delece 3p (52%), 11q (48%), 13q (38%), 6q (38%) a 4p (34%). Pro karcinomy cervixu typická amplifikace 3q se vyskytla v 35% preinvazivních cervikálních lézí a v 72% invazivních cervikálních karcinomů. Je to první studie, která nalezla opakující se typ aberace již v preinvazivních stadiích cervikálních karcinomů (29). Dellas et al., 1999, analyzovali 62 vzorků cervikálních karcinomů stadia IB. Nejčastější nálezy byly delece 4q (53%), 3p (52%), 13q (45%), 4p (44%), 5q (40%), 18q (37%), 6q (35%). Delece 9p se statisticky významně více vyskytuje u tumorů s metastázami v lymfatických uzlinách. Ztráty na chromozomech 11p a 18q jsou spojeny s horší prognózou onemocnění u nádorů bez metastatického postižení lymfatických uzlin. Nálezy naznačují, že ztráta tumor-supresorových genů na 9p, 11p a 18q může hrát roli v rozvoji karcinomu cervixu. Amplifikace byly nalezeny na chromozomech 17p (30%), 17q (27%), 20q (16%) a 3q (15%). Delece 3p je druhá nejčastější aberace nalezena v této studii, která naznačuje roli 3p delece při progresi cervikálních nádorů. Amplifikace 3q byla nalezena pouze v 15% případů, v kontrastu s ostatními studii (30). Dellas et al., 2003, aplikovali CGH na 22 cervikálních adenokarcinomů (stadium IB). Aberace byly nalezeny ve všech případech, s průměrem 6 aberací na tumor. Amplifikace se vyskytly nejčastěji na chromozomu 17q (54%) a 20q (23%), delece na chromozomu Xq (50%), Xp (50%), 18q (36%), 4p (36%), 9p (32%), 13q (27%), 5q (27%) a 3p (23%). Rozdíl

v prognóze tumoru s vyšším počtem aberací a tumoru s malým počtem aberací nebyl nalezen. Ztráta 18q byla asociována s horší prognózou onemocnění. Studie naznačuje, že inaktivace tumor-supresorového genu na 18q může být zodpovědná za progresi dlaždicobuněčného i žlázového karcinomu. Tři kandidátní tumor-supresorové geny lokalizované na 18q jsou DCC, DPC4 a MADR2. Lokus 17q11-12 obsahuje geny HER-2/neu (erbB2), BRCA1 a nm23, jejich změny byly detekovány i v nádorech prsu a ovaria, u nádorů cervixu mohou také hrát důležitou roli. Při srovnání se spinocelulárními nádory z předchozí studie nebyl nalezen signifikantní rozdíl v počtu aberací. Amplifikace 17q byla častější u adenokarcinomů. Ztráty na 4p, 3p a 13q byly častější u dlaždicobuněčného karcinomu. Odlišné nálezy naznačují, že proces karcinogeneze u obou histotypů by mohl obsahovat odlišné kroky. Všechny nádory byly pozitivní na HPV (31). Matthews et al. detekovali amplifikace 1q, 3q, 5p, 20q a Xq a delece 3p, 5p, 8q a 16q při analýze 27 cervikálních karcinomů. Pozitivita HPV (16, 18) byla prokázána u 95% nádorů. Nebyla prokázána souvislost mezi HPV typem a chromozomálními aberacemi (32). Thein et al. porovnávali chromozomální aberace zjištěné pomocí karyotypování a CGH u spinocelulárních cervikálních karcinomů. Nejčastěji pozorované byly amplifikace 3q a 8q, které byly detekovány pomocí obou metod ve všech nádorech (33). Allen et al. studovali 37 cervikálních karcinomů (stadium IB). Statisticky více aberací bylo nalezeno u tumorů s metastázami v lymfatických uzlinách. Nejčastěji detekované byly delece 3p, 11p, 6q a 10q a amplifikace 3q (34). Hidalgo et al., 2000 studovali 12 primárních cervikálních karcinomů a 12 buněčných nádorových linií. Nejčastější aberací byla delece 3p a 2q a amplifikace 3q. Buněčné linie obsahovaly větší množství aberací než nádory. Infekce HPV-18 byla spojena s vyšším počtem aberací ve specifických lokusech, většinou známých jako integrační místa HPV (35). Hidalgo et al., 2003, analyzovali buněčné linie získané ze 4 karcinomů cervixů (stadium IIA a IVA) pomocí CGH, v souvislosti s infekcí HPV-18. Unikátní aberace vyskytující se u HPV-18 pozitivních případů byly amplifikace 1q31-q32 a 7p13-p14 a delece 6q26-q27 (36). Sherwood et al. hodnotili 13 spinocelulárních karcinomů a 11 adenokarcinomů děložního hrdla. V 92% zjistili delece na chromozomu 4. U spinocelulárního karcinomu převažovaly delece na 4q, u adenokarcinomu byly nalezeny hlavně delece na 4p. Ze studie (nejedná se o CGH, ale LOH - loss of heterozygosity) vyplývá, že delece na chromozomu 4 jsou u cervikálního karcinomu časté a odlišují se u dlaždicobuněčného karcinomu a adenokarcinomu - jde patrně o odlišné geny zainteresované v karcinogenezi (37). Guo et al. potvrzují, že cervikální karcinomy vznikají ze serie premaligních lézí (CIN). Hlavním etiologickým faktorem je infekce HPV a delece chromozomu 3p. Studie byla provedena pomocí LOH, ne CGH (38). Yang et al. prezentuje CGH studii 20 cervikálních adenokarcinomů. Amplifikace byly detekovány častěji než delece. 70% případů obsahuje amplifikaci 3q, další časté nálezy jsou amplifikace 17q (45%), 1p (30%), 1q (25%), 11q (20%) a delece 4q, 13q a 18q. Přítomnost HPV byla prokázána v 90% případů, ale nebyla nalezena korelace mezi HPV typem a určitými aberacemi. Studie dokládá důležitost 3q amplifikací při rozvoji cervikálního adenokarcinomu (39). Umayhara et al. pomocí CGH (po předchozí DOP-PCR) analyzovali 18 pacientek s cervikální intraepiteliální neoplazií a současně se vyskytujícím spinocelulárním karcinomem. U obou typů se vyskytly časté amplifikace chromozomů 1 a 3q a delece 2q, 3p, 4, 6p, 11q a 17p. Studie naznačuje, že množství genových změn je přímo úměrné progresi karcinomu (40). Rao et al. analyzovali 77 cervikálních karcinomů (5 adenokarcinomů, 72 spinocelulárních karcinomů, stadia IB-IVA). CGH odhalila deleci 2q (57%) a amplifikaci 3q (54, 5%) jako nejčastější genetické změny charakteristické pro invazivní nádor cervixu. Amplifikace byly nejčastější na chromozomech 3q (54,5%), 5p (29,9%), 1p (27,3%), 8q (26%), 20q (26%),

9q (24,7%), 1q (19,5%), 20p (18,2%), Xq (16,9%), 19p (16,9%) a 13q (15,6%). Delece (častější než amplifikace) byly nalezeny na chromozomech 2q (57,1%), 13q (42,9%), 4q (36,4%), 11q (36,4%), 4p (29,9%), 17p (29,9%), 3p (28,6%). Pacientky pozitivní na HPV-18 vykazovaly větší množství aberací, korelace s prognózou a stadiem onemocnění nebyly v této studii prokázány (41).

Souhrnem lze říci, že amplifikace jsou detekovány nejčastěji na chromozomech 1q, 3q, 5p, 8q, 17q a 20q. Delece se vyskytují nejvíce na 2q, 3p, 4p, 4q, 6q, 11q, 13q, 17p, 18q a Xq. Aberace byly nalezeny u nádorů všech stadií, včetně preinvasivních lézí, t.j. cervikálních intraepiteliálních neoplazií. Většina studií potvrdila, že amplifikace dlouhých ramének chromozomu 3 je nejběžnější alterace nalézaná v buňkách cervikálních karcinomů. Dalším charakteristickým nálezem cervikálních nádorů je izochromozom 5p, který potvrzuje i klasické cytogenetické studie. Ve většině nádorů byla detekována přítomnost HPV (human papilloma virus) typu 16 nebo 18, souvislost specifických aberací s virovou infekcí nebyla jednoznačně prokázána. HPV je považován za nejvýznamnější faktor pro rozvoj spinocelulárního karcinomu, samotná přítomnost HPV však k rozvoji karcinomu zřejmě nestačí. Větší množství chromozomálních aberací v nádoru bylo spojeno s pokročilejším stadiem tumoru a s horší prognózou onemocnění. Více aberací bylo také nalezeno u nádorů s metastázami v lymfatických uzlinách. Také delece 11p a 18q jsou asociovány s horší prognózou. Nejvíce studované geny v souvislosti s karcinomem cervixu jsou RB gen (13q14), p53 (17p13.3) a HER2/neu (erbB2, 17q11.2-q12). Inaktivace tumor-supresorových proteinů pRB a p53 může být důležitým krokem v cervikální karcinogenezi a probíhá formou mutace nebo v součinnosti s HPV infekcí. Existence dalších genů hrajících roli v cervikální karcinogenezi je předpokládána v konstatních místech amplifikací a delecí.

Ovariální karcinomy představují z hlediska genetických alterací velkou variabilitu v nálezech. Zvýšená pozornost je jim věnována od 90. let, v poslední době se jejich výzkumu věnuje stále větší počet pracovišť, především díky významnému rozvoji cytogenetických a molekulárně-cytogenetických technik. Mark et al. detekovali trizomii chromozomu 8 v serózních karcinomech (stadium I a III) pomocí chromozom 8-specifické alfa-satelitní sondy. Testováno bylo 24 vzorků, z nichž u 87,5% byla zjištěna trizomie 8. Z těchto pozitivních vzorků odpovídalo 80% stadiu I a 93% stadiu III. Trizomie 8 se tedy vyskytuje s vysokou frekvencí u časných i pozdních stadií (42). Tibiletti et al. zjišťovali cytogenetické abnormality u benigních, border line a maligních ovariálních nádorů pomocí klasického karyotypování a FISH. Unikátní nálezy pro invazivní karcinomy jsou: ztráta chromozomu 4, nadbytek chromozomu 2, 7, 8, 9, 10, 16, 17, 18, 19, 20 a 21, 6q16-q24, dále přestavby na 3p, 3q, 13q a 21q (43). Iwabuchi et al. analyzovali 56 ovariálních tumorů (benigní, LMP - low malignant potential, maligní). Benigní nádory vykazovaly hlavně amplifikaci 3q a 8q a delecii 16q a 17p. U LMP tumorů byly nejčastější amplifikace 3q a 20q, u maligních tumorů amplifikace 8q. Větší množství aberací bylo asociováno s kratší dobou celkového přežití (44). Arnold et al. vyšetřili 47 maligních ovariálních tumorů. Nejčastější aberace byly amplifikace 8q (53%), 3q (51%), 20q (43%), 1p (32%), 19q (30%), 1q (28%), 12p (28%), 6p (21%), 2q (19%). Delece byly detekovány na 18q (23%), 4 (23%), 13q (17%), 16q (17%). Vyskytly se i delece na X chromozomu, které pozitivně korelovaly s věkem pacientek (může být způsobeno aging fenoménem) (45). Sonoda et al. analyzovali 25 maligních ovariálních nádorů. Nejčastější místa amplifikace byly 8q, 3q, 20q, 7q, 17q, 19q. Delece byly časté na 5q, 9q, 17p, 17q, 4q, 16q, 22q. Delece 17p se, statisticky významně, více vyskytovala u tumorů ve vyšším stadiu, což naznačuje, že může hrát roli v pozdějším rozvoji karcinomu a tvorbě metastáz (46). Tapper et al. porovnávali 20 ovariálních karcinomů pozitivních na BRCA1 a BRCA2 mutaci s 20 sporadic-

kými ovariálními karcinomy. Porovnání odhalilo vysokou genetickou podobnost mezi oběma skupinami s výjimkou amplifikace 2q24-q32, která se u dědičných nádorů vyskytovala výrazně častěji. Zjištění podporuje hypotézu společného průběhu karcinogeneze u dědičných a sporadických karcinomů ovaria a naznačuje přítomnost onkogenu v lokusu 2q24-q32, který je aktivní při nefunkčním BRCA1 genu (47). Patel-Karasić et al. analyzovali 16 ovariálních karcinomů. Nejčastějším nálezem byla amplifikace 8q (66,6%), 1q (41,6%), 3q (33,3%), 10p (33,3%) a delece 9q (41,6%), 16q (33,3%). Všechny nádory s prokázanou mutací BRCA1 genu vykazovali 9q delecii. Žádný se sporadických chromozomů neobsahoval delecii chromozomu 19. Z toho vyplývá, že dědičná predispozice ke karcinomu ovaria by mohla zahrnovat dispoziční k somatické delecii chromozomů 9 a 19 (48). Kiechle et al. studovali 106 primárních ovariálních karcinomů. Nejčastější aberace byly amplifikace 8q, 1q, 20q, 3q a 19p, které se vyskytly u 53-69% nádorů a delece, které byly nalezeny u 50-54% nádorů. Nediferencované ovariální karcinomy pozitivně korelovaly s delecí 11p a 13q a amplifikací 8q a 7p. U středně diferencovaných tumorů se vyskytovala často delece 12p a amplifikace 18p. Studie naznačuje, že primární ovariální karcinomy jsou spojeny s určitými chromozomálními aberacemi, které zřejmě hrají roli v karcinogenezi. Korelace mezi určitými aberacemi a nediferencovanými karcinomy by mohla pomoci při rozlišení primárních a sekundárních genetických událostí a při lokalizaci genů ovlivňujících tento proces (49). Shridhar et al. studovali pomocí CGH 12 ovariálních karcinomů časného stadia a 17 karcinomů pokročilého stadia, histologicky byly zastoupeny karcinomy serózní, endometroidní a světlebuněčné. Obě skupiny nádorů vykazovaly podobné aberace, přesto byly pozorovány i určité rozdíly. U raných stadií převažovaly delece nad amplifikacemi. Nejčastější byly delece 2q, 4q, 5q, 6q, 13q, 18q, u obou skupin zastoupeny v podobné míře. Amplifikace byly pozorovány hlavně v pokročilejších stadiích, a to na chromozomech 3q, 8q, 11q, 12p, 17q a 20q. Tyto rozdíly naznačují způsob vývoje ovariálních karcinomů (50). Zweemer et al. analyzovali 36 dědičných ovariálních karcinomů. Amplifikace byly nalezeny nejčastěji na chromozomech 8q, 3q, 11q a 2q. Delece se vyskytly zejména na chromozomech 8p, 16q, 22q, 9q, 12q, 15q, 17p, Xp, 20p a 18p. Porovnání s literaturou odhalilo, že podobné aberace se vykytují i u sporadických karcinomů. Specifické pro dědičné karcinomy se ukázaly delece 15q, 8p, 22q, 12q a amplifikace 11q, 13q a 17q (51). Sham et al. analyzovali CGH na 31 primárních ovariálních karcinomů. Amplifikace byly detekovány nejčastěji na chromozomech 3q (55%), 8q (52%), 19q (39%), Xq (35%), 1q (32%), 12p (32%), 17q (32%), 20q (29%). Delece byly nalezeny na chromozomech 16q (29%), 1p (23%), 18q (23%) a 22 (23%) (52). Bayani et al. provedli paralelní studii ovariálních karcinomů pomocí SKY, CGH a microarrays. Zjistili, že největší frekvenci aberací mají chromozomy 3, 8, 11, 17 a 21. Nejčastější přestavby byly detekovány (SKY) v oblastech 1p11, 1q11, 2q23, 3p21, 3q11, 5p11, 5q11, 6p11-p12, 6q14, 8p11, 8q11-12, 8q22-q23, 11p11, 11q11, 11q23, 13p11, 13q11 a 21p11. Zároveň na chromozomech 6, 8 a 11 byly nalezeny čtyři a více centromerických nebo pericentromerických přestaveb. Vysoké procento delecí chromozomu 4 se vyskytuje u tumorů v pokročilejších stadiích. Aberace jsou častější u endometroidních histotypů (53). Stabler et al. prokázali jako nejčastější aberaci u serózních ovariálních karcinomů amplifikaci 8q, kde leží c-myc onkogen, často se vyskytovala také amplifikace 3q (54). Umayahara et al. analyzovali 30 ovariálních karcinomů. Rovněž prokázali, že nejčastěji se vyskytující amplifikace jsou 8q, 3q a delece 17p, 18q a 4q. U nádorů s metastázami v lymfatických uzlinách se vyskytovaly významně více amplifikace 11q a delece 17q. Tyto dvě aberace také pozitivně korelovaly s klinickým stadiem a diferenciací nádoru (55). Hauptmann et al. analyzovali 47 ovariálních nádorů a prokázali, že serózní karcinomy pokročilých stadií vykazují dvakrát více aberací než nádory nižších stadií.

Amplifikace byly nalezeny na chromozomech 3q, 6p, 7, 8q a 20, delece 4q, 6q, 12q, 13q a 16q. Společné aberace pro různé histotypy byly zejména amplifikace 3q, 6p a delece 4q. Aberace spojené s horší prognózou byly amplifikace 6p, 7q, 13q a delece 15q, 17p, 18q a 21q. Data naznačují, že nádory nízkého maligního potenciálu a invazivní karcinomy obsahují odlišné aberace a jsou tedy dvěma odlišnými skupinami ovariálních nádorů (56). Hu et al. analyzovali 20 serózních karcinomů. Nejčastější místa amplifikací byly 1q, 8q, 19p, 20q, 3q, 12p, 2p, 7p, 5p, 17q. Delece se vyskytovaly na Xp, 4q, 18q, 13q, 9p, 16q. Až 85% tumorů vykazovalo amplifikaci v oblastech 2p a 8q, kde se nachází rodina myc genů, které mohou hrát roli v karcinogeneze ovariálních serózních karcinomů. Pacientky s tumorem obsahujícím méně než 7 aberací přežily déle. Data naznačují, že tumory s amplifikací 1p, 19p, 20q a delecí 5q mohou mít větší riziko recidiv (57). Kim et al. studovali 22 ovariálních karcinomů. Amplifikace se vyskytovaly nejčastěji na 20q (90%), 17q (86%), 8q (68%), 6p (59%), 11q (54%), 16p (40%), 2q (36%), 7q (36%), 14q (36%), 15q (36%) a 1q (31%). Nejčastější místa delecí byly 4q (54%), 5q (50%), 13q (45%). Tato studie mapuje oblasti, ve kterých by se mohly vyskytovat onkogeny a tumor-supresorové geny (58). Fishman et al., analyzovali 7 serózních karcinomů stadia III. CGH analýza odhalila opakující se aberace u 6 karcinomů: amplifikace 1q, 2p, 2q, 3q, 6q, 8q, 12p a delece 18q a X. Tyto nálezy potvrzují i předchozí studie. Porovnání odhalilo více aberací u primárního karcinomu než u metastáz (59).

Z provedených studií vyplynula celá řada závěrů. U epitheliálních nádorů CGH analýza odhalila amplifikace na chromozomech 1q, 3q, 8q, 20q, delece byly nalezeny na chromozomech 4q, 13q, 16q, 18q. Pro pokročilá stadia je typická ztráta chromozomu 4. Odlišné subtypy nevykazují specifické aberace, složitější aberace jsou v mucinózních a endometroidních tumorech nalézané vzácně, v benigních tumorech a nádorech s nízkým maligním potenciálem aberace nalezeny nebyly. V dobře diferencovaných karcinomech se vyskytují jen mírné aberace, zatímco v nediferencovaných jsou nalézány složité komplexní přestavby. Pro všechny ovariální tumory jsou typické amplifikace na chromozomech 3, 8 a 12. Byla nalezena korelace mezi množstvím aberací a stadiem onemocnění a také délkou celkového přežití. Geny účastníci se v karcinogenezi germinálních tumorů a nádorů ze zárodečných pruhů nejsou dosud přesně známy. Mutace p53 jsou u těchto tumorů vzácné. Naopak, u epitheliálních tumorů je mutace p53 běžná. Cytogenetické analýzy ovariálních karcinomů prokázaly přítomnost komplexních karyotypů se širokou škálou numerických a strukturálních přestaveb, jako jsou vysoce fragmentované chromozomy, telomerické fúze a komplexní přestavby. Delece jednotlivých chromozomů ukazují na roli tumor-supresorových genů lokalizovaných v těchto chromozomálních úsecích, kte-

ré mají zřejmě významnou roli v patogeneze ovariálního karcinomu. Mezi tyto geny patří RB1, WT1, PTEN, LOT 1 (transkripční faktor), OVCA 1, OVCA 2, CDKN2A (p16), LKB1 (STK11), Dab2/DOC1. Jednou z nejčastějších genetických alterací popsanych u většího karcinomu je alterace tumor-supresorového genu p53. Zvýšená exprese mutovaného p53 genu je signifikantně vyšší v pokročilých stadiích ovariálního karcinomu (40-60%) ve srovnání s časným stadiem onemocnění (10-20%). Z celé řady získaných poznatků je zřejmé, že protein p53 působí jako „molekulární strážce“, který brání rozšíření geneticky poškozených buněk. Mutace tumor-supresorových genů BRCA1 (17q21) a BRCA2 (13q12-13) jsou zodpovědné přibližně za 90% hereditárních ovariálních karcinomů - asi v 70% BRCA1, ve 20% BRCA2. Zbývající případy se týkají mutací ostatních tzv. mutátorových genů (hMSH2, hMLH1, PMS1, PMS2) zodpovědných za opravu poškozené DNA a jsou vzácné. Studium genetických změn u gynekologických malignit prokázalo, že inaktivace tumor-supresorových genů je zjišťována častěji než aktivace onkogenů. Tato skutečnost může souviset se snadnější identifikací tumor-supresorových genů v souvislosti s jejich podílem na hereditárních syndromech. Mezi geny, které se účastní růstových regulačních pochodů a které byly popsány u ovariálních karcinomů, patří c-erbB3, c-erbB2 (HER-2/neu), K-ras, akt-2, c-myc (60).

Většina z více než 200 genů, jejichž alterace byly nalezeny v různých typech lidských nádorů, významně ovlivňují nádorový růst. Množství genetických alterací, odpovídajících jak aktivaci onkogenů, tak ztrátě funkce supresorových genů, bylo zjištěno také u gynekologických zhoubných nádorů, bez jednoznačného stanovení významu těchto nálezů.

Přesto se dá předpokládat, že existuje celá řada dalších neméně významných genů, s méně penetrantním fenotypem, která nebyla dosud identifikována. Jde především o geny ovlivňující odpověď na stres, geny kontrolující kyslíkový metabolismus a detoxikaci xenobiotik, které mohou hrát roli kofaktorů v nádorovém procesu. Navíc řada biologických alterací zřejmě není detekovatelná na úrovni DNA. Změny vedoucí k rozvoji nádoru mohou vycházet z modifikovaných RNA, z proteinových struktur v korelaci s epigenetickými vlivy. Vedle průkazu exprese jednotlivých genů se tak odkrývá celé pole možnosti studia proteinových struktur (proteomics), jejich dynamiky a interakce s cílem dalšího prohloubení znalostí o vývoji nádorových onemocnění. Tyto poznatky by měly přispět v korelaci s dalšími informacemi o nádoru - molekulárně biologického i klinického charakteru - k vytvoření prediktivního modelu a individualizaci léčebného procesu u nemocných s nádorovým onemocněním.

Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ NH/7659-3 a VZ MSM 0021620808.

Literatura

- Hajdúch M., Jarošová M., Trojanec R. et al.: Cytogenetické a molekulárně biologické markery v onkologii solidních nádorů a hematologických malignit. *Klin. Onkol.*, 2004, 17, Suppl., s. 51-56.
- Stewart B.W., Kleihues P. (Eds.): *World Cancer Report (WH O)*. Lyon: IARC Press, 2003, 351 p.
- Greggi S., Macuso S., Pecorelli S.: *Familial and Hereditary Cancer in Women*. Milano: Poletto Editore, 1999, 180 p.
- Jančárková N., Zikán M., Pohreich P. et al.: Detekce a v ýskyt mutací genu BRCA1 u pacientek s karcinomem prsu a ovaria. *Ces. Gynek.*, 2003, 68, 1, s. 11-16.
- Langston A. A., Ostrander E. A.: Hereditary Ovarian Cancer. *Curr. Opin. Obstet. Gynec.*, 1999, 9, p. 3-7.
- Lynch H. T., Casey M. J., Lynch J. et al.: Genetics and Ovarian Carcinoma. *Sem. Oncol.*, 1998, 25, 3, p. 265-280.
- Žaloudík J., Vyzula R., Dušek L.: Potřebujeme prediktivní onkologii? *Klin. Onkol.*, 1999, 12, 3, s. 110-111.
- Rejthar A., Vojtěšek B.: *Obecná patologie nádorového růstu*. Praha: Grada Publishing, 2002, 206 s.
- Berchuk A.: Biomarkers in the Ovary. *J Cell Biochem*, 1995, Suppl. 23, p. 223-226.
- Bernardini M., Weberpals J., Squire J. A.: The use of cytogenetics in understanding ovarian cancer. *Biomed Pharmacot her*, 2004, 1, p. 17-23.
- Huang N. F., Gupta M., Varghese S. et al.: Detection of numerical chromosomal abnormalities in epithelial ovarian neoplasms by fluorescence in situ hybridization (FISH) and are view of the current literature. *App Immunohistochem Mol Mor phol*, 2002, 10, 2, p. 187-193.
- Patel A. S., Hawkins A. L., Griffin C. A.: Cytogenetics and Cancer. *Curr Opin Oncol*, 2000, 12, 1, p. 62-67.
- Rao P. H., Harris C. P., Lu X. Y. et al.: Multicolor spectral karyotyping of serous ovarian adenocarcinoma. *Genes Chromosomes Cancer*, 2002, 33, p. 123-132.
- Shelling A. N., Cooke L. E., Ganesan T. S.: The genetic analysis of ovarian cancer. *Br J Cancer*, 1995, 72, 3, p. 521-527.

15. Teixeira N. R.: Combined classical and molecular cytogenetic analysis of cancer. *Eur J Cancer*, 2002, 38, 12, p. 1580-1584.
16. Tonnies H.: Modern molecular cytogenetic techniques in genetic diagnosis. *Trends Mol Med*, 2002, 8, 6, p. 246-250.
17. Tanke H. J., Wiegant J., van Gijlswijk R. P. et al.: New strategy for multi-color FISH; COBRA: Combined Binary Ratio Labelling. *Eur J Hum Genet*, 1999, 7, p. 2.11.
18. Brink A. A., Wiegant J. C., Suzhai K. et al.: Simultaneous mapping of human papillomavirus integration sites and molecular karyotyping in short-term cultures of cervical carcinomas by using 49-color combined binary ratio labelling FISH. *Cancer Genet Cytogenet*, 2002, 134, 2, p. 145-150.
19. Couturier J., Sastre-Garau X., Schneider-Maunoury S. et al.: Integration of papillomavirus DNA near myc genes in genital carcinomas and its consequences for protooncogene expression. *J Virol*, 1991, 65, p. 4534-4538.
20. Macville M., Schrock E., Padilla-Nash H. et al.: Comprehensive and definitive molecular cytogenetic characterization of HeLa cells by spectral karyotyping. *Cancer Res*, 1999, 59, p. 141-150.
21. Zimonjic D. B., Simpson S., Popescu N.C. et al.: Molecular cytogenetics of human papillomavirus-negative cervical carcinoma cell lines. *Cancer Genet Cytogenet*, 1995, 82, 1, p. 1-8.
22. Atkin N. B.: Cytogenetics of carcinoma of the cervix uteri: a review. *Cancer Genet Cytogenet*, 1997, 95, 1, p. 33-39.
23. Thein A. T. A., Han X., Heyderman E. et al.: Molecular cytogenetic analysis of five newly established cervical cancer cell lines using G-banding and FISH. *Cancer Genet Cytogenet*, 1996, 196, p. 28-36.
24. Mian C., Bancher D., Kohlberger P. et al.: Fluorescence in situ hybridization in cervical smears: detection of numerical aberrations of chromosomes 7, 3, X and relationship to HPV infection. *Gynecol Oncol*, 1999, 75, p. 41-46.
25. Heselmeyer K., Macville M., Schrock E. et al.: Advanced-stage cervical carcinomas are defined by a recurrent pattern of chromosomal aberrations revealing high genetic instability and a consistent gain of chromosome arm 3q. *Genes Chromosomes Cancer*, 1997, 19, p. 233-240.
26. Harris C. P., Lu X. Y., Narayan G. et al.: Comprehensive molecular cytogenetic characterization of cervical cancer cell lines. *Genes Chromosomes Cancer*, 2003, 36, 3, p. 233-241.
27. Heselmeyer-Haddad K., Janz V., Castle P. E. et al.: Detection and genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in cytologic specimens as a genetic test for the diagnosis of cervical dysplasia. *Am J Pathol*, 2003, 163, p. 1405-1416.
28. Heselmeyer-Haddad K., Sommerfeld K., White N. M. et al.: Genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in pap smears predicts the development of cervical cancer. *Am J Pathol*, 2005, 166, 4, p. 1229-1238.
29. Kirchhoff M., Rose H., Petersen B. L. et al.: Comparative genomic hybridization reveals a recurrent pattern of chromosomal aberrations in severe dysplasia/carcinoma in situ of the cervix and in advanced-stage cervical carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer*, 1999, 24, p. 144-150.
30. Dellas A., Torhorst J., Jiang F. et al.: Prognostic value of genomic alterations in invasive cervical squamous cell carcinoma of clinical stage IB detected by comparative genomic hybridization. *Cancer Research*, 1999, 59, p. 3475-3479.
31. Dellas A., Torhorst J., Gaudenz R. et al.: DNA copy number changes in cervical adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 2003, 9, p. 2985-2991.
32. Mathewa C., Shera K. A., McDougall J. K. et al.: Genomic changes and HPV type in cervical carcinoma. *Proc. of the Soc. for Experimental Biology and Medicine*, 2000, 223, p. 316-321.
33. Thein A., Trkova M., Fox M. et al.: The application of comparative genomic hybridization to previously karyotyped cervical cancer cell lines. *Cancer Genet Cytogenet*, 2000, 116, p. 59-65.
34. Allen D. G., White D. J., Hutchins A. M. et al.: Progressive genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization in squamous cell cervical cancer. *Br J Cancer*, 2000, 83, p. 1659-1663.
35. Hidalgo A., Schewe C., Petersen S. et al.: Human papilloma virus status and chromosomal imbalances in primary cervical carcinomas and tumour cell lines. *Eur J Cancer*, 2000, 36, p. 542-548.
36. Hidalgo A., Monroy A., Arana R. M. et al.: Chromosomal imbalances in four new uterine cervix carcinoma derived cell lines. *BMC Cancer*, 2003, 3:8.
37. Sherwood J. B., Shivapurkar N., Lin W. M. et al.: Chromosome 4 deletions are frequent in invasive cervical cancer and differ between histologic variants. *Gynecol Oncol*, 2000, 79, p. 90-96.
38. Guo Z., Hu X., Afink G. et al.: Comparison of chromosome 3p deletions between cervical precancers synchronous with and without invasive cancer. *Int J Cancer*, 2000, 86, p. 518-523.
39. Yang Y. C., Shyong W. Y., Chang M., S. et al.: Frequent gain of copy number on the long arm of chromosome 3 in human cervical adenocarcinoma. *Cancer Genet Cytogenet*, 2001, 131, p. 48-53.
40. Umayahara K., Numa F., Suehiro Y. et al.: Comparative genomic hybridization detects genetic alterations during early stages of cervical cancer progression. *Genes Chromosomes Cancer*, 2002, 33, p. 98-102.
41. Rao P. H., Arias-Pulido H., Lu X. Y. et al.: Chromosomal amplifications, 3q gain and deletion of 2q33-q37 are the frequent genetic changes in cervical carcinoma. *BMC Cancer*, 2004, 4:5.
42. Mark H. F., Afify A. M., Werness B. A. et al.: Trisomy 8 in stage I and stage III ovarian cancer detected by FISH. *Exp Mol Pathol*, 1999, 66, 1, p. 76-81.
43. Tibiletti M. A., Bernasconi B., Taborelli M. et al.: Genetic and cytogenetic observations among different types of ovarian tumors are compatible with a progression model underlying ovarian tumorigenesis. *Cancer Genet Cytogenet*, 2003, 146, p. 145-153.
44. Iwabuchi H., Sakamoto M., Sakunaga H. et al.: Genetic analysis of benign, low-grade and high-grade ovarian tumors. *Cancer Res*, 1995, 55, p. 6172-6180.
45. Arnold N., Hagele L., Walz L. et al.: Overrepresentation of 3q and 8q material and loss of 18q material are recurrent findings in advanced human ovarian cancer. *Genes Chromosomes Cancer*, 1996, 16, p. 46-54.
46. Sonoda G., Palazzo J., du Manoir S. et al.: Comparative genomic hybridization detects frequent overrepresentation of chromosomal material from 3q26, 8q24 and 20q13 in human ovarian carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer*, 1997, 58, p. 3105-3110.
47. Tapper J., Sarantaus L., Vahteristo P. et al.: Genetic changes in inherited and sporadic ovarian carcinomas by comparative genomic hybridization: extensive similarity except for a difference at chromosome 2q24-q32. *Cancer Res*, 1998, 58, p. 2715-2719.
48. Patael-Karasik Y., Daniely M., Gotlieb W. H. et al.: Comparative genomic hybridization in inherited and sporadic ovarian tumors in Israel. *Cancer Genet Cytogenet*, 2000, 121, p. 26-32.
49. Kiechle M., Jacobsen A., Schwarz-Boeger U. et al.: Comparative genomic hybridization detects genetic imbalances in primary ovarian carcinomas as correlated with grade of differentiation. *Cancer*, 2001, 91, p. 534-540.
50. Shridhar V., Lee J., Pandita A. et al.: Genetic analysis of early- versus late-stage ovarian tumors. *Cancer Res*, 2001, 61, p. 5895-5904.
51. Zweemer R. P., Ryan A., Snijders A. M. et al.: Comparative genomic hybridization of microdissected familial ovarian carcinoma: two deleted regions on chromosome 15q not previously identified in sporadic ovarian carcinoma. *Lab Invest*, 2001, 81, p. 1363-1370.
52. Sham J. S., Tang T. C., Fang Y. et al.: Recurrent chromosome alterations in primary ovarian carcinoma in Chinese women. *Cancer Genet Cytogenet*, 2002, 133, p. 39-44.
53. Bayani J., Brenton J. D., Macgregor P. F. et al.: Parallel analysis of sporadic primary ovarian carcinomas by spectral karyotyping, comparative hybridization and expression microarrays. *Cancer Res*, 2002, 62, p. 3466-3476.
54. Staebler A., Heselmeyer-Haddad K., Bell K. et al.: Microapillary serous carcinoma of the ovary has distinct patterns of chromosomal imbalances by comparative genomic hybridization compared with atypical proliferative serous tumors and serous carcinomas. *Hum Pathol*, 2002, 33, p. 47-52.
55. Umayahara K., Numa F., Inokuma A. et al.: Genetic alterations related to lymph node metastasis and peritoneal dissemination in epithelial ovarian cancer. *Oncol Rep*, 2002, 9, p. 1115-1119.
56. Hauptmann S., Denkert C., Koch I. et al.: Genetic alterations in epithelial ovarian tumors analyzed by comparative genomic hybridization. *Hum Pathol*, 2002, 33, p. 632-641.
57. Hu J., Khanna V., Jones M. M. et al.: Comparative study of primary and recurrent serous carcinomas: comparative genomic hybridization analysis with a potential application for prognosis. *Gynecol Oncol*, 2003, 89, p. 369-375.
58. Kim G. J., Kim J. O., Hong E. K. et al.: Detection of genetic alterations in Korean ovarian carcinomas by degenerate oligonucleotide primed polymerase chain reaction-comparative genomic hybridization. *Cancer Genet Cytogenet*, 2003, 147, p. 23-27.
59. Fishman A., Shalom-Paz E., Fejgin M. et al.: Comparing the genetic changes detected in the primary and secondary tumor sites of ovarian cancer using comparative genomic hybridization. *Int J Gynecol Cancer*, 2005, 15, p. 261-266.
60. Jančárková N., Krkavcová M., Janashia M. et al.: Genetické aspekty maligních epiteliálních nádorů ovaria. *Čes. Gynek.*, 2005, 70, 4, s. 299-306.

Došlo: 25. 11. 2005
Přijato: 12. 12. 2005