

KLINICKÁ CYTOGENETIKA SEMINÁŘ

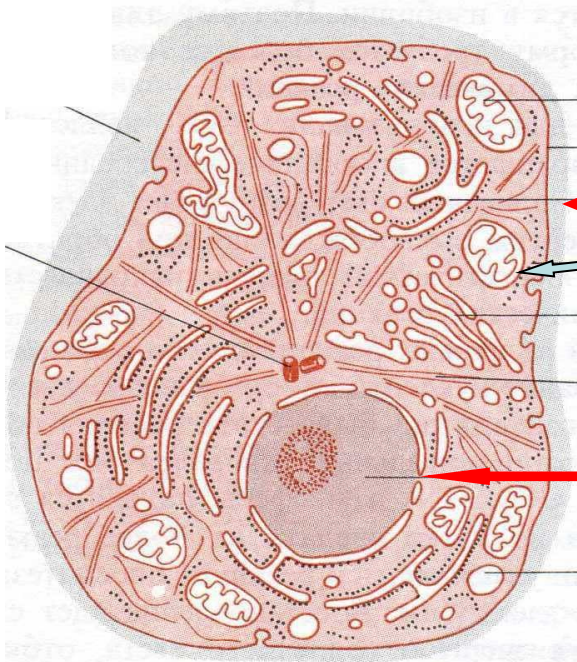
Mgr. Hanáková



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



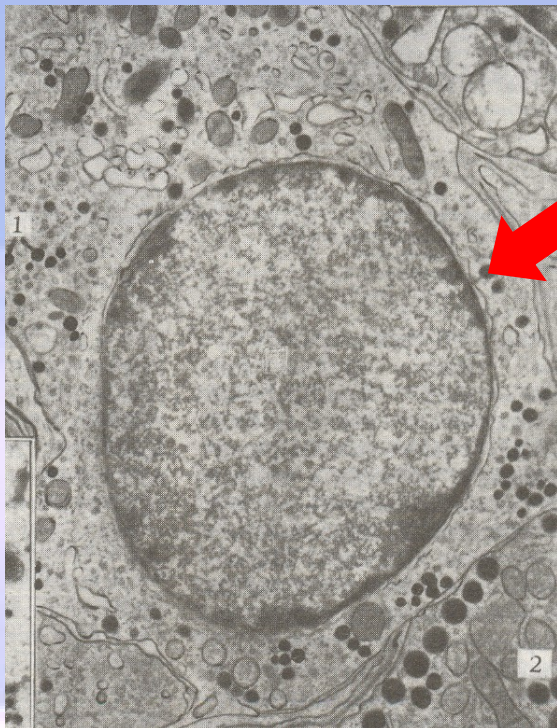
SCHEMA LIDSKÉ BUŇKY



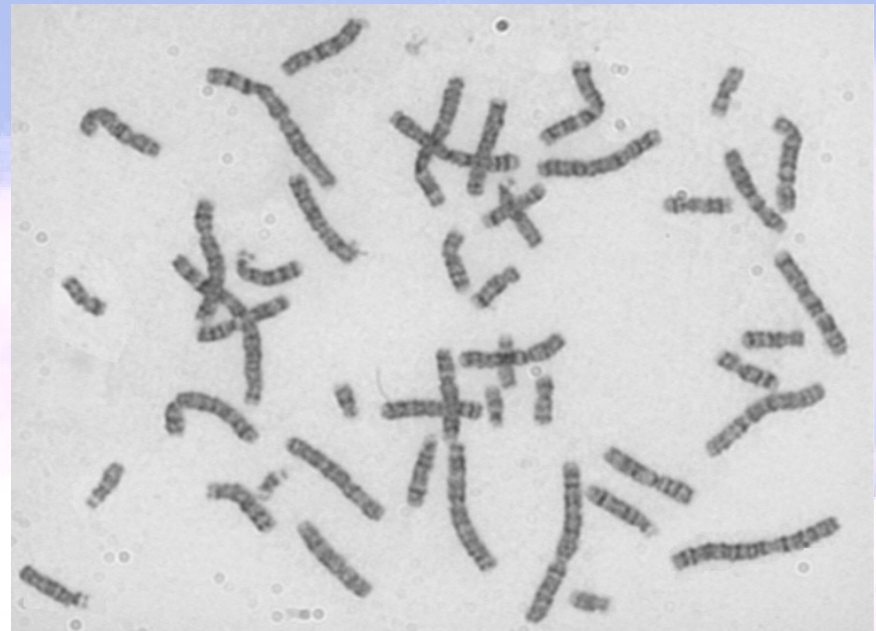
cytoplasma s organelami
(DNA je v mitochondriích)

buněčné jádro
(DNA + proteiny, RNA)

ZMĚNA ORGANIZACE GENETICKÉHO MATERIÁLU BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU SOMATICKÝCH BUNĚK



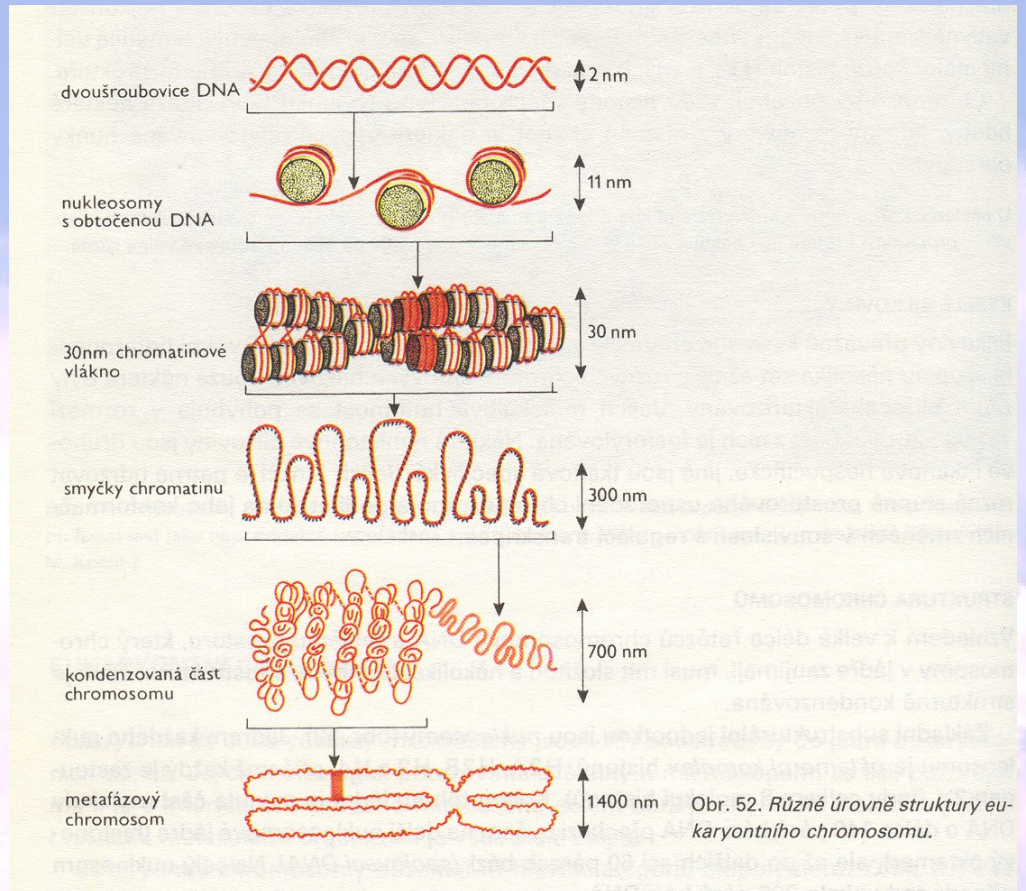
**jádro v interfázi –
despiralizované molekuly DNA
(různé stupně spiralizace)**



**mitóza (metafáze)
chromosomy = spiralizované molekuly DNA
46 chromosomů lidí s normálním karyotypem**

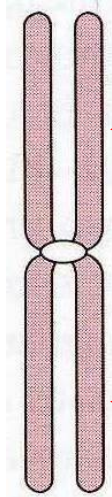
SPIRALIZACE CHROMOSOMŮ

během buněčného cyklu se chromatin nachází v různých fázích spiralizace (v interfázi nízký stupeň spiralizace, během mitózy postupná kondenzace, maximální v metafázi mitózy)



CHROMOSOMY V PRAXI

schema chromosomu



← p - krátká raménka →

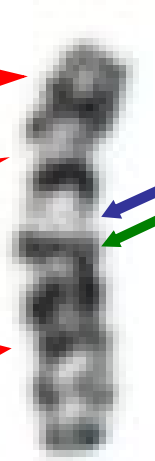
← centromera →

← q - dlouhá raménka →

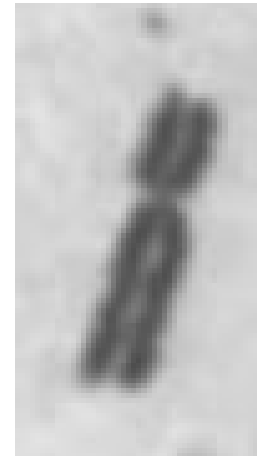


sesterské chromatidy
(identické kopie)

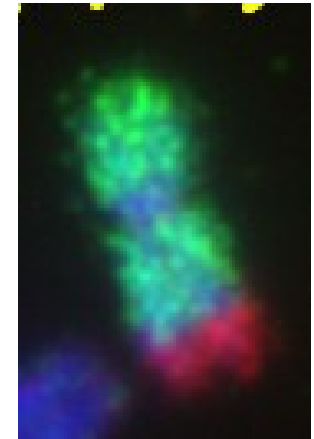
chromosom s G- pruhy



chromosom
konvenčně barvený



chromosom
metoda FISH



dvouchromatidový metafázní chromosom

CHROMOSOMOVÉ ABERACE (CHA)

Cílem cytogenetického vyšetření je zjištění **přítomnosti / nepřítomnosti chromosomových aberací** (patologických chromosomových změn)



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



TYPY CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ

OLG FN BRNO

- VYŠETŘENÍ VROZENÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ – prenatální a postnatální vyšetření
- VYŠETŘENÍ ZÍSKANÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ (vznikajících v důsledku působení mutagenních faktorů prostředí na člověka) – postnatální vyšetření

OLG FN BRNO – molekulárně
cytogenetická vyšetření

IHOK FN BRNO –
klasická cytogenetika

- VYŠETŘENÍ ZÍSKANÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ (u onkologických onemocnění)
vyšetření z kostní dřeně a tkáně solidních tumorů



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VYŠETŘENÍ **VROZENÝCH** CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ

většina vyšetření



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



ODDĚLENÍ LÉKAŘSKÉ GENETIKY FN BRNO

ambulance

**laboratoře klinické
cytogenetiky**

- laboratoř klasické cytogenetiky

stanovení karyotypu
G – pruhování chromosomů

- laboratoř molekulární cytogenetiky

metody – FISH, SKY, CGH, MLPA

**laboratoř molekulární
diagnostiky**



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



MOŽNOSTI VYŠETŘENÍ GENETICKÉHO MATERIÁLU (v různých typech laboratoří)

- **vyšetření chromosomů**

- metodami klasické cytogenetiky
(G-pruhování chromosomů)

vyšetření celého karyotypu (všech chromosomů)

rozlišovací schopnost nejnižší (do 10 Mb)



chromosom s G-pruhy

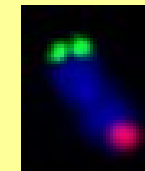
- **vyšetření chromosomů, interfázních jader i izolované DNA**

- metodami molekulární cytogenetiky
(vyšetření pomocí fluorescenčně značených sond, PCR)

vyšetření celého karyotypu

vyšetření konkrétních oblastí

rozlišovací schopnost vyšší (až po rozdíly v jednotlivých nukleotidech – závisí na konkrétní metodě)

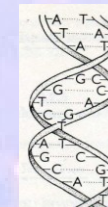


chromosom s fluorescenčně značenými sondami (vlevo),
interfázni jádro (vpravo)

- **vyšetření izolované DNA**

- metody molekulární genetiky

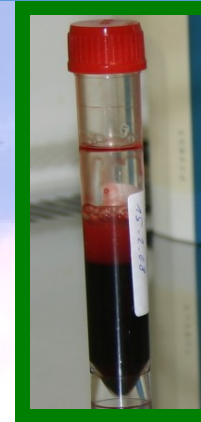
rozlišovací schopnost nejvyšší (rozdíly v sekvenci DNA)



dvoušroubovice DNA

VSTUPNÍ MATERIÁLY K VYŠETŘENÍ

- postnatální materiály: **periferní krev**
- prenatální materiály: **plodová voda**, **choriové klky**,
krev plodu, **kůže potracených plodů**



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

- odběr materiálu
- kultivace – **získání dostatečného množství dělicích se buněk (s chromosomy)**, zastavení dělení buněk **kolchicinem**
- zpracování suspenze (hypotonizace, fixace) – získání **suspenze jader**
- vykapání na podložní sklíčka
- pruhování / barvení chromosomů

metody 1. volby v indikovaných případech



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

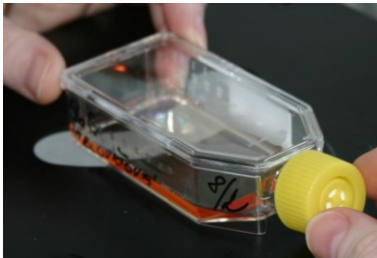


METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

kultivace materiálu



nasazení periferní krve



nasazení plodové vody

1



kultivace v termostatu

2



aplikace kolchicinu – mitotického jedu
po kultivaci

3

METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

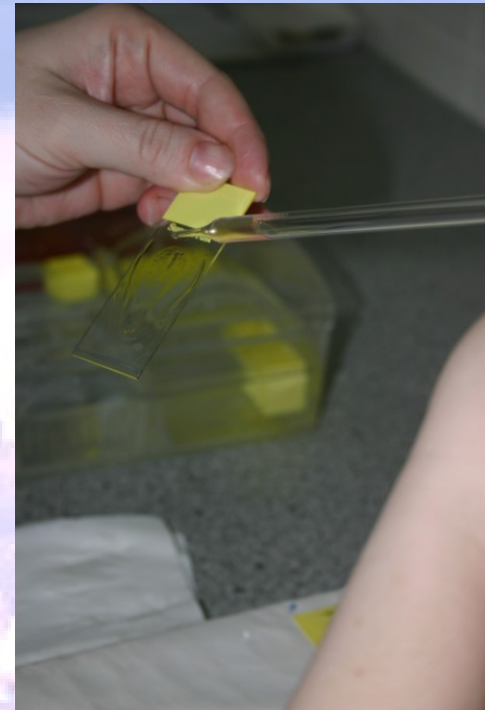
zpracování suspenze

- hypotonizace, fixace – získání suspenze jader



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

- vykapání suspenze jader na podložní sklíčka



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

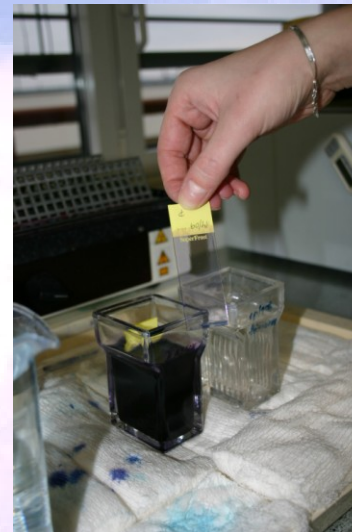
G -pruhování chromosomů

- G - pruhování chromosomů

1 – inkubace
preparátu
v roztoku
trypsinu
(natrávení
proteinů na
povrchu
chromosomů)



2 – barvení
barvivem
Giemsa-
Romanowski



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

hodnocení

chromosomy s G-pruhy hodnotíme ve **světelném mikroskopu**
zdroj světla - **viditelná část spektra** (halogenová žárovka)
(stanovení karyotypu)



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

hodnocení

zvětšení přibližně 1000x

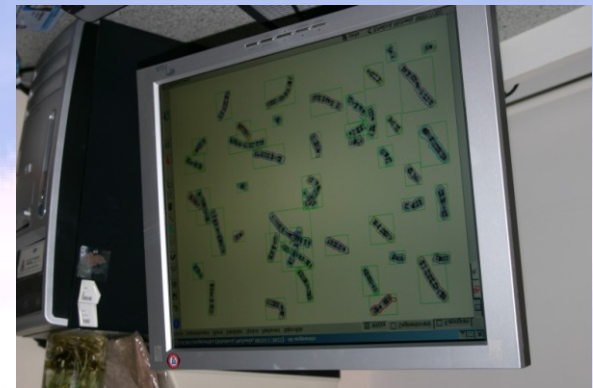


METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

hodnocení

ke třídění chromosomů a sestavení karyotypu lze využít počítačové analýzy obrazu

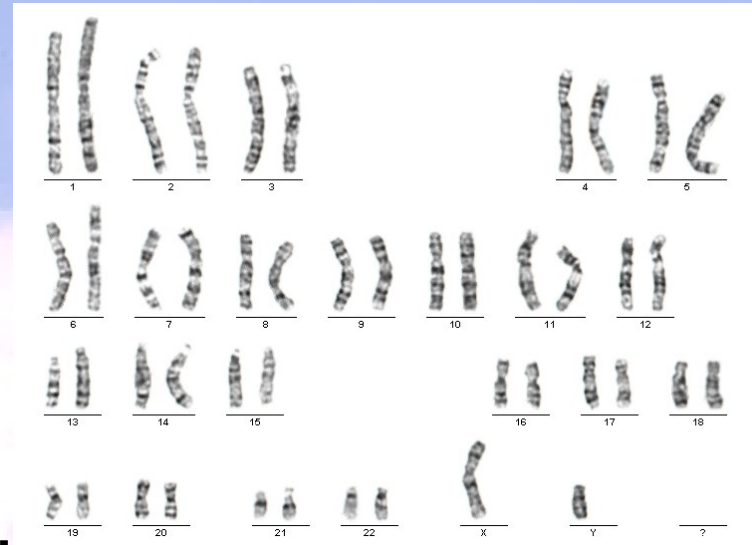
světelný mikroskop
s CCD kamerou
napojený na počítač



CHROMOSOMY V PRAXI

karyotyp

- **soubor chromosomů** jedince nebo buňky, označujeme **počet** chromosomů, **typ pohlavních chromosomů** a případné **aberrace** (zápis karyotypu např. 46,XY)
- normální lidský karyotyp se skládá ze **46 chromosomů**, z toho **22 párů autosomů** (nepohlavních chromosomů) a **2 gonosomů** (pohlavních chromosomů)
- chromosomový pár je tvořen **homologními** chromosomy, z nichž jeden je zděněn od otce a druhý od matky, nepárové chromosomy jsou **nehomologní** (somatické diploidní buňky)

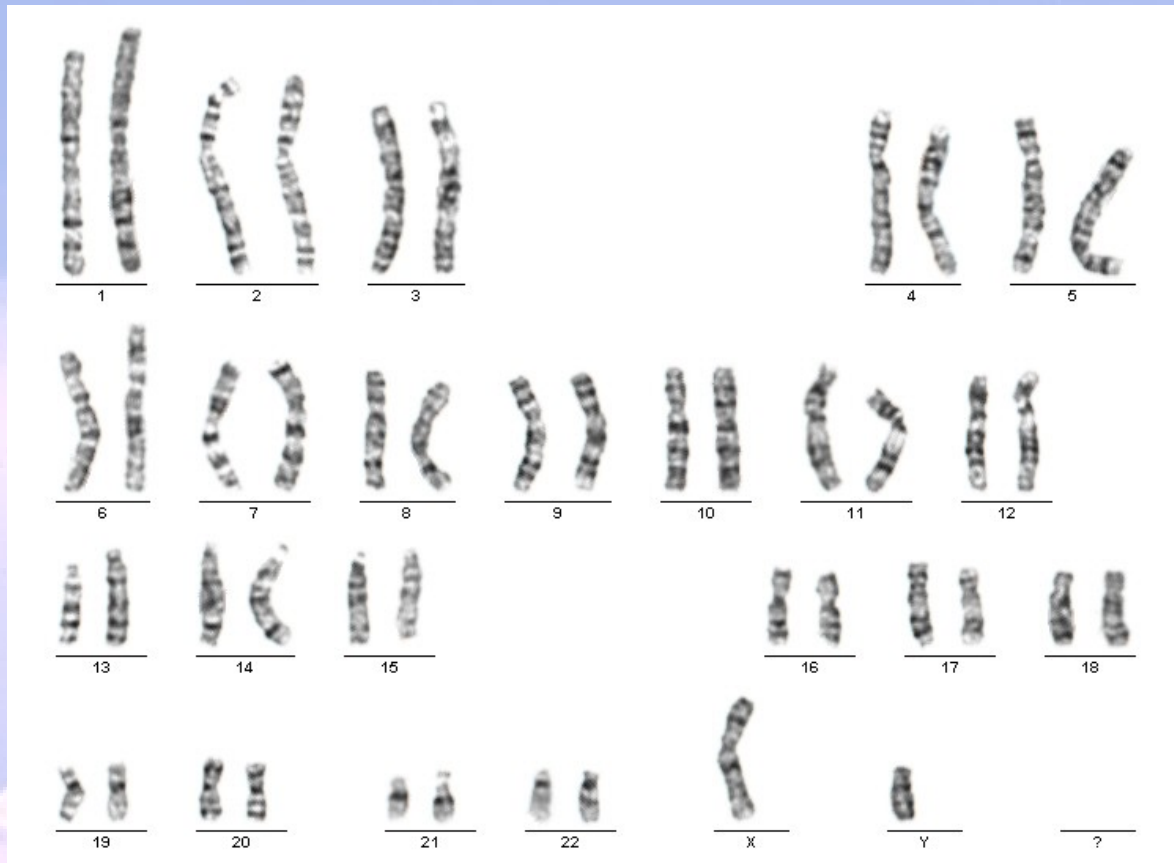


obrázek = utříděný soubor chromosomů jednoho jádra, který vypovídá o chromosomech i v ostatních buňkách pacienta

CHROMOSOMY V PRAXI

normální mužský karyotyp

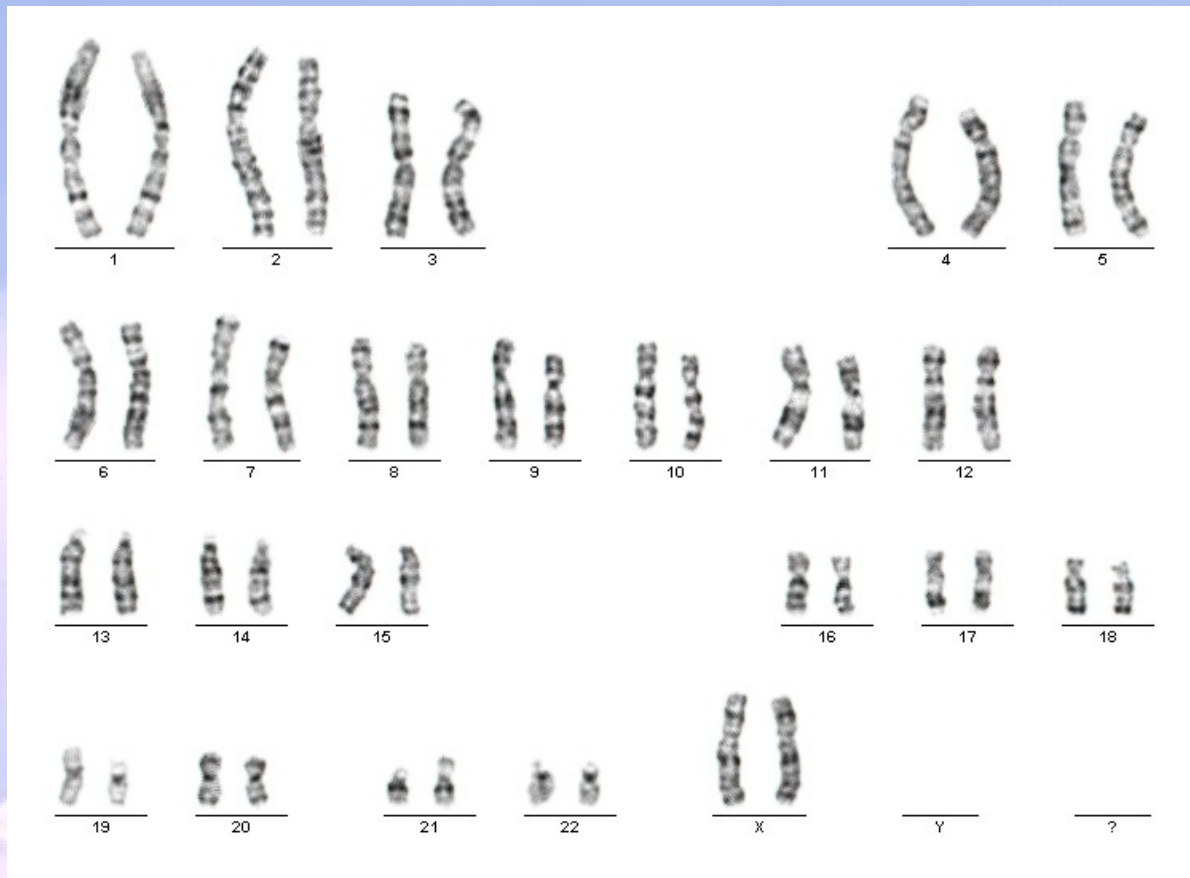
46,XY



CHROMOSOMY V PRAXI

normální ženský karyotyp

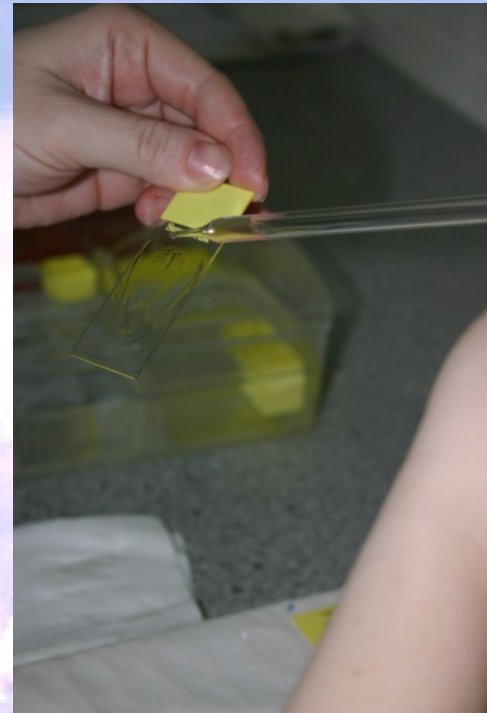
46,XX



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

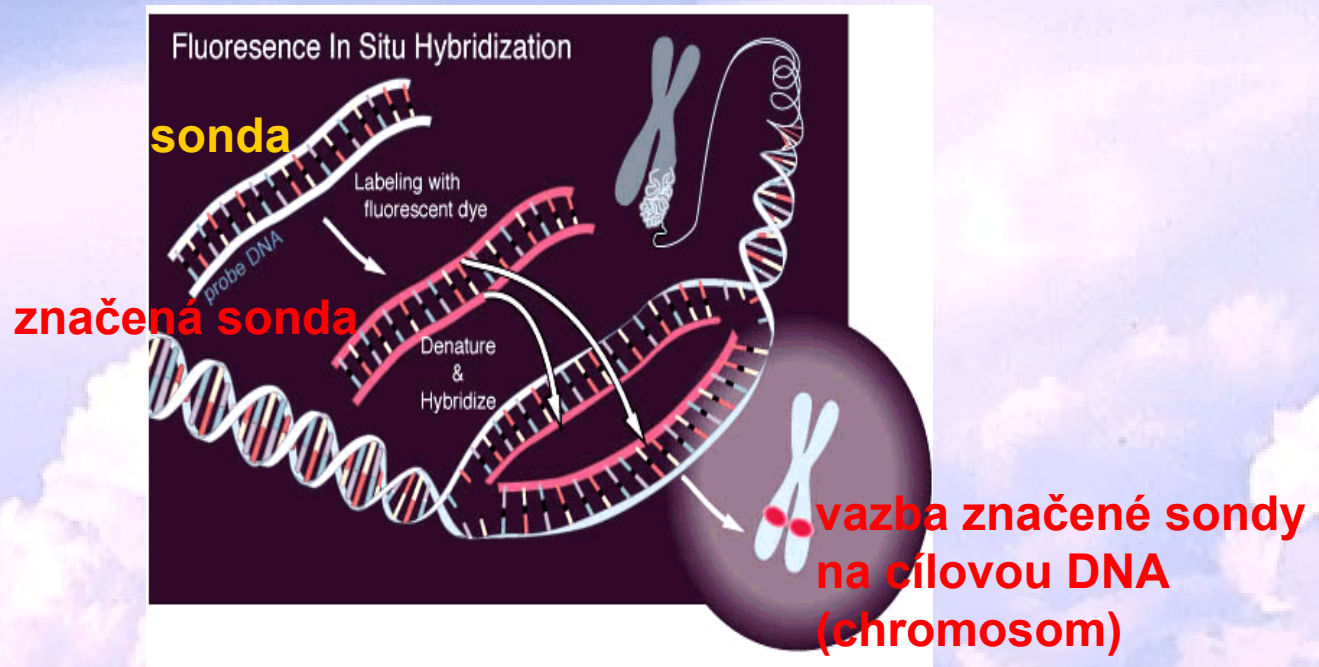
zpracování suspenze

- **vykapání suspenze na podložní sklíčka**
(pro některá vyšetření (FISH))



METODY MOLEKULÁRNÍ CYTOGENETIKY

princip vazby fluorescenčně značené sondy na chromosomy
nebo interfázni jádra na podložním sklíčku



METODY MOLEKULÁRNÍ CYTOGENETIKY hodnocení

chromosomy fluorescenčně značené hodnotíme ve **fluorescenčním mikroskopu**, zdroj světla - **krátkovlnná část spektra** (např. rtuťová výbojka); fluorescenční mikroskop je také součástí systému **analýzy obrazu**

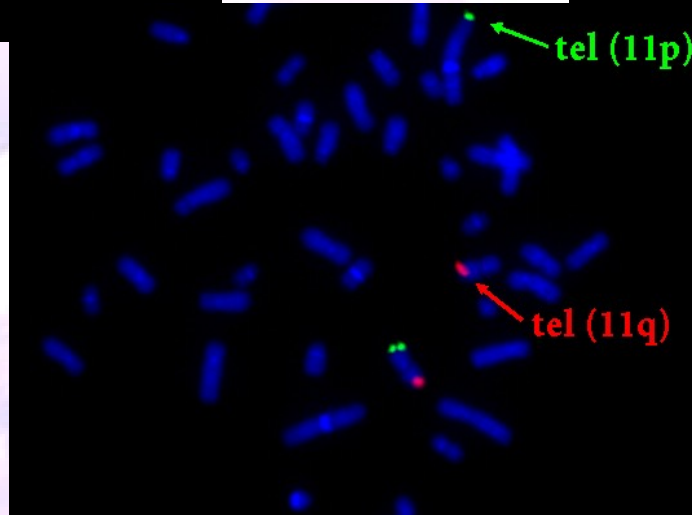
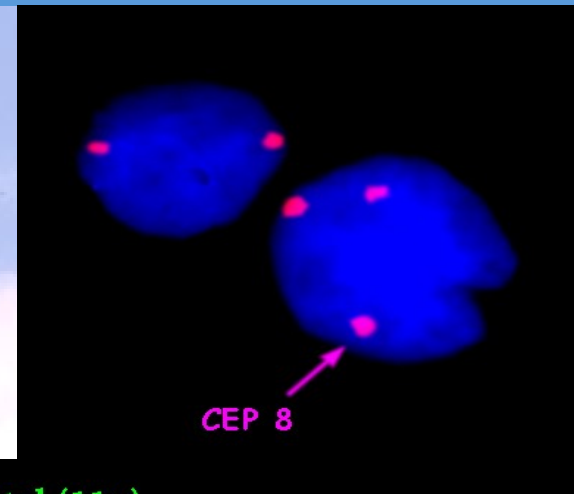
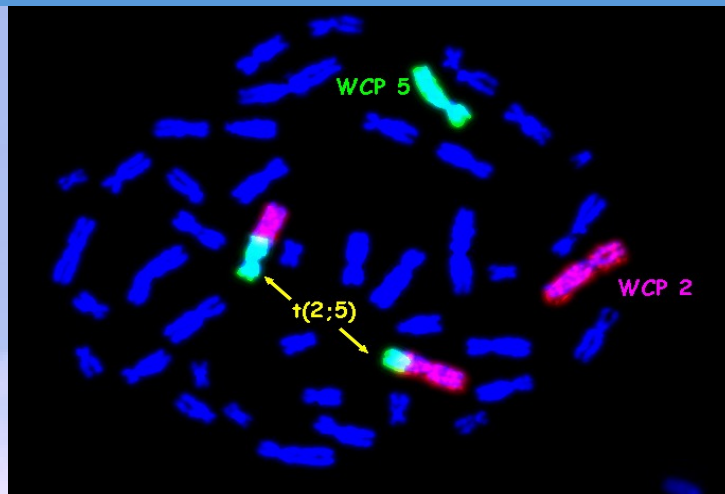


speciální filtry



zdroj krátkovlnného
vysokoenergetického záření

METODY MOLEKULÁRNÍ CYTOGENETIKY - FISH



DALŠÍ METODY MOLEKULÁRNÍ CYTOGENETIKY

- SKY (spektrální karyotypování)
M-FISH (multicolor FISH)
- CGH (komparativní genomová hybridizace)
- MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification)
- M-BAND (mnohobarevné pruhování)



VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE

Vznik VCA - **de novo** - poruchy v procesu **meiózy** (tvorby gamet z primárních oocytů a spermatocytů); během procesu **mitózy** (mozaika)
- **zděděné** – **potomci** rodičů – **nositelů balancovaných přestaveb**

- **početní abnormality**
- polyploidie – znásobení počtu chromosomových sad (samovolné aborty)
- abnormality počtu chromosomů v páru
 - **aneuploidie** (trisomie chromosomů 21, 18, 13, gonosomů, monosomie chromosomu X)- viz základní přednáška
- **strukturní abnormality**
- **translokace, inverze, delece**, duplikace, inserce, zvláštní typy chromosomů – viz základní přednáška



POČETNÍ ZMĚNY (aberrace) počet chromosomů v karyotypu jiný než 46

Ize spolehlivě odhalit metodou **G – pruhování chromosomů**

STRUKTURNÍ ZMĚNY (aberrace) počet chromosomů většinou zachován, ale změna struktury chromosomů

(změna lokalizace, ztráta, nadbytek genetického
materiálu)

Ize odhalit metodou **G-pruhování chromosomů** u větších aberrací (v rámci rozlišovací schopnosti metody), menší změny (např. mikrolece) lze detekovat metodami **molekulární cytogenetiky**

VCA – STRUKTURNÍ ABERACE



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



KARYOTYP BALANCOVANÝ

(genetický materiál nechybí ani nepřebývá)

- balancované **strukturní** přestavby
(translokace, inverze)

KARYOTYP NEBALANCOVANÝ

(část genetického materiálu chybí a část přebývá, event. je možné pouze chybění nebo pouze nadbytek genetického materiálu)

- nebalancované **strukturní** přestavby
(nebalancovaní **potomci** rodičů s balancovanou přestavbou, delece, duplikace vzniklá **de novo**)

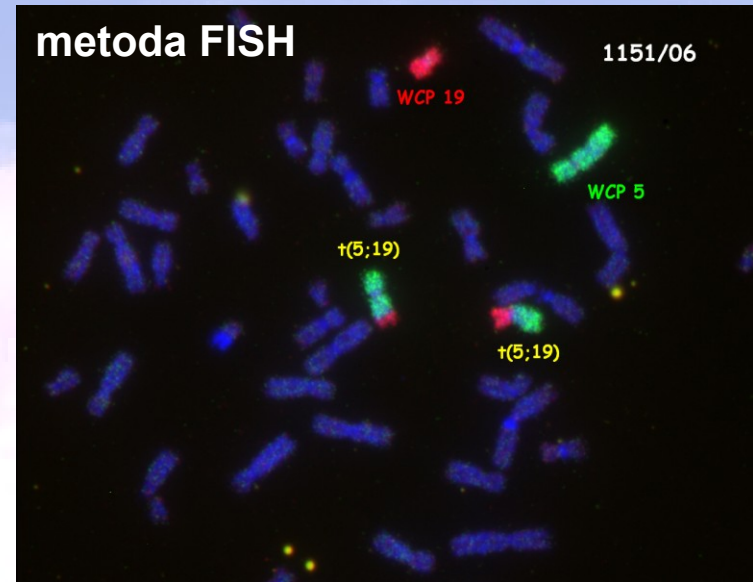
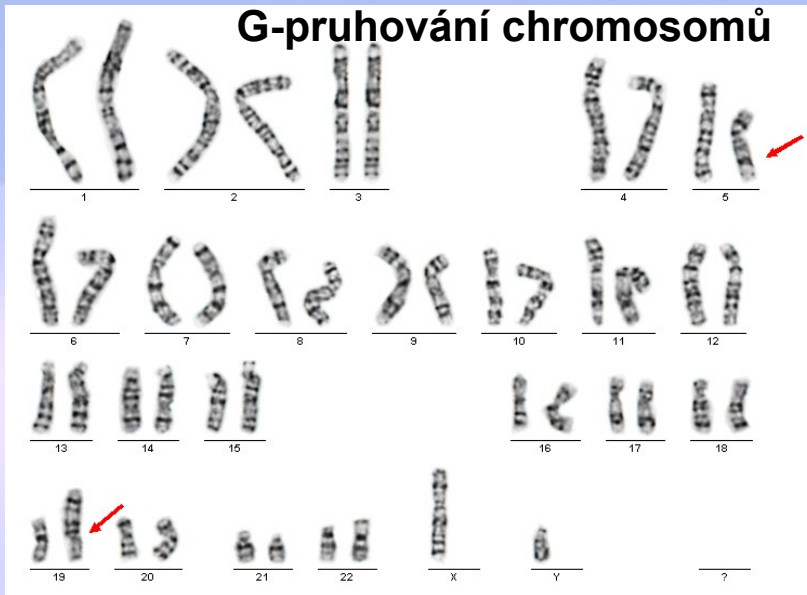


Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) - příklady

strukturní změny – balancované přestavby
– např. reciproká translokace
balancovaný karyotyp



46,XY,t(5;19)(q15;p12)

nositelé vrožených balancovaných přestaveb většinou nemají žádné změny fenotypu

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

**strukturní změny – vztah mezi balancovanou
a zděděnou formou nebalancované přestavby**
– přenos na potomky
- reciproká translokace, inverze

- **translokace a pericentrické inverze** u svých nositelů většinou nezpůsobují abnormální fenotyp
- **vysoké riziko vzniku nebalancovaných gamet – samovolné aborty**
- **narození postižených dětí (nebalancovaný karyotyp** - parciální monosomie jednoho a parciální trisomie druhého chromosomu)

Možné typy gamet rodiče s balancovanou translokací :

- bez přestavby (normální haploidní sada chromosomů)
- s balancovanou přestavbou (oba translokované chromosomy)
- **s nebalancovanou přestavbou (1 část translokace) !!!!!!!!!!!!!**



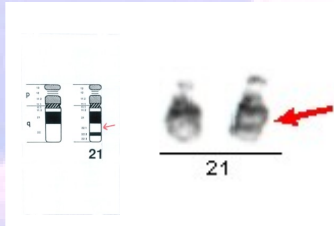
VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

strukturní změny

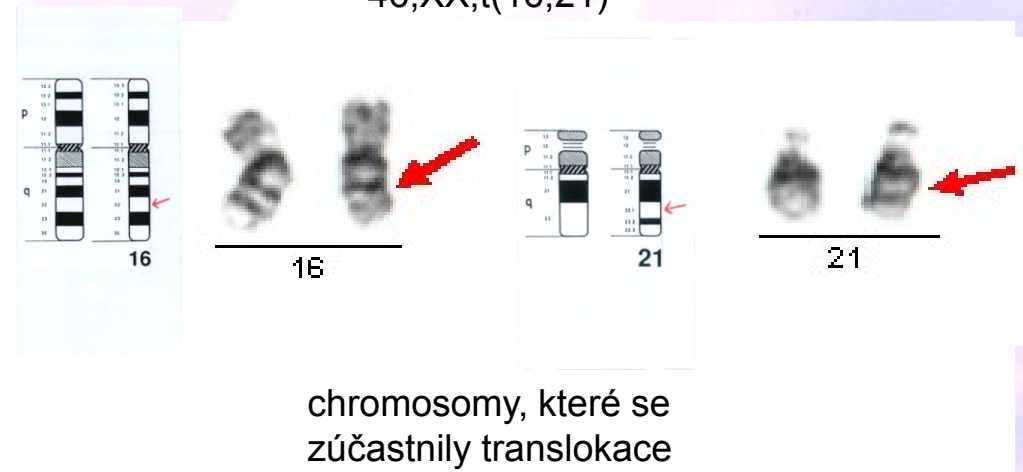
**– např. translokace - derivovaný chromosom
vztah mezi balancovaným karyotypem
a zděděnou formou nebalancovaného karyotypu**

nebalancovaný karyotyp (parciální monosomie jednoho a parciální trisomie druhého chromosomu) – potomek rodiče – nositele balancované translokace

**dítě s nebalancovaným
karyotypem**
46,XY,der(21)t(16;21)mat



karyotyp matky
46,XX,t(16;21)



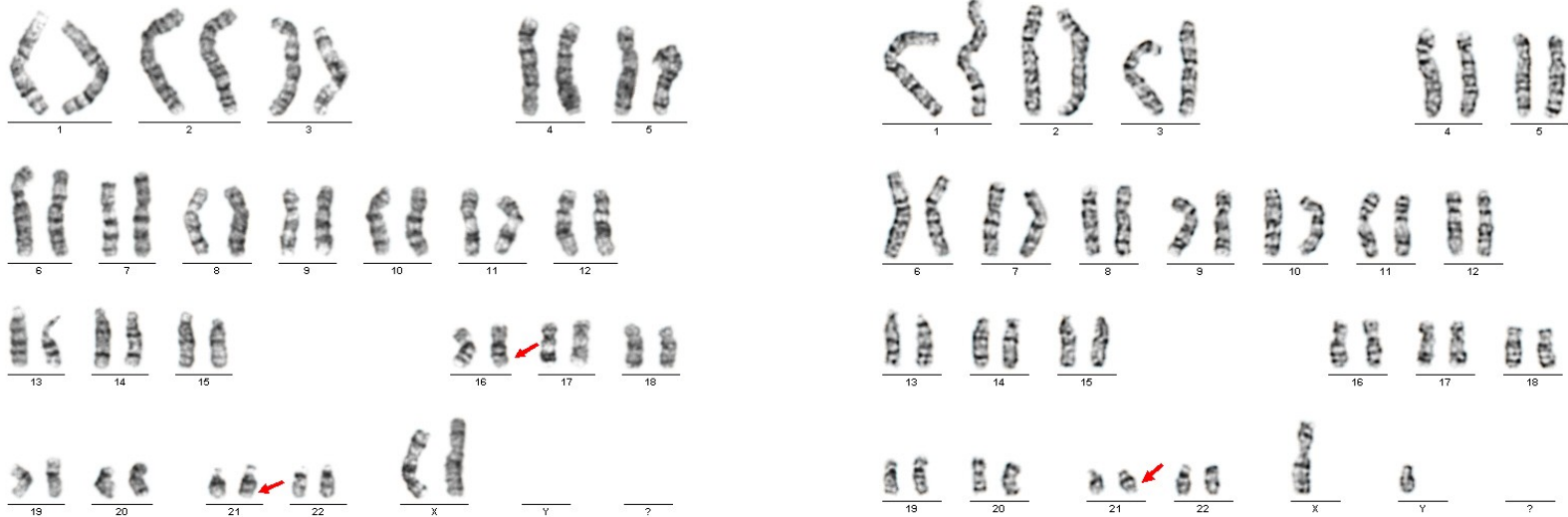
VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

strukturní změny

– např. translokace - derivovaný chromosom
vztah mezi **balancovaným karyotypem**

a zděděnou formou nebalancovaného karyotypu

G-pruhování chromosomů (klasická cytogenetika)



rodič

46,XX,t(16;21)(q22;q22.1)

potomek

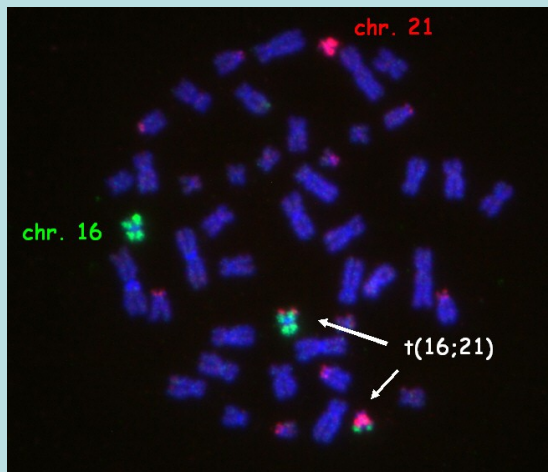
46,XY,der(21)t(16;21)(q22;q22.1)mat

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

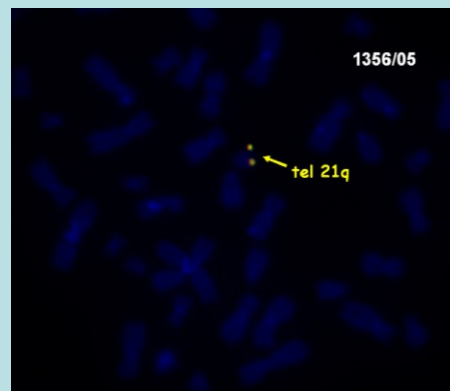
strukturní změny

– např. translokace - derivovaný chromosom
vztah mezi balancovaným karyotypem
a zděděnou formou nebalancovaného karyotypu

matka



potomek



1356/05



potvrzení translokace u matky a derivovaného chromosomu u dítěte
metodou molekulární cytogenetiky - **FISH**

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

strukturní změny – nebalancované aberace
– např. koncová delece de novo

G-pruhování chromosomů (klasická cytogenetika)

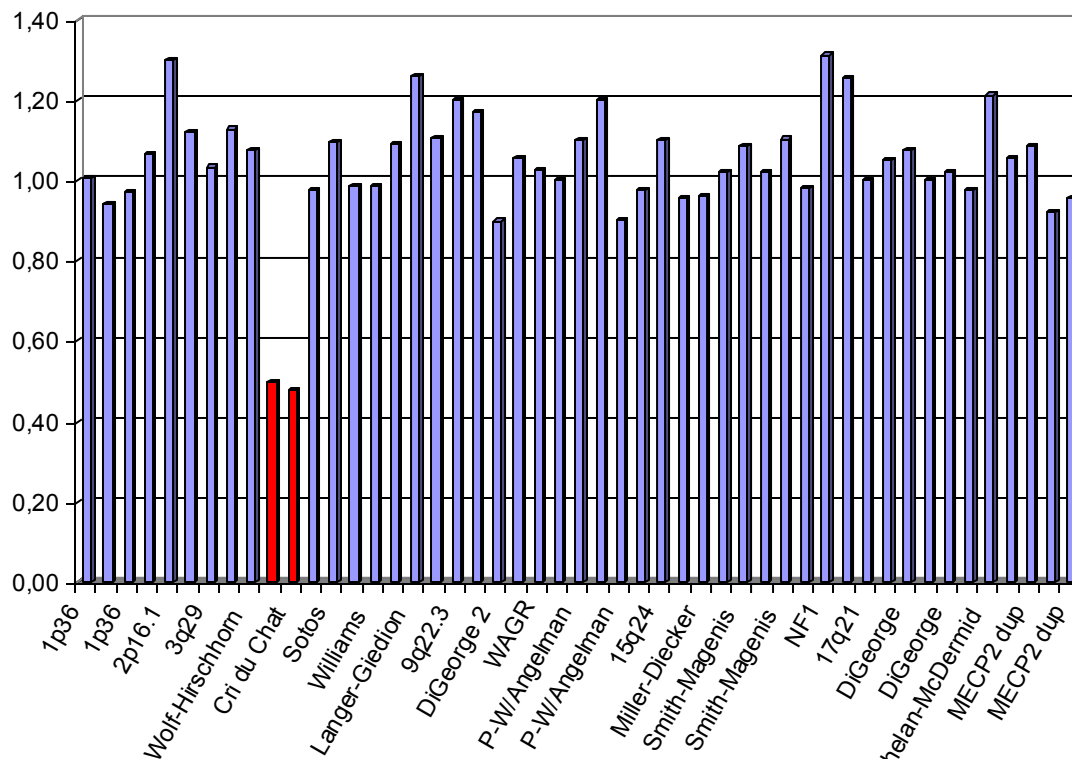


46,XX,del(5)(p14.1)

syndrom Cri du Chat

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

strukturní změny – nebalancované aberace
– např. koncová delece de novo



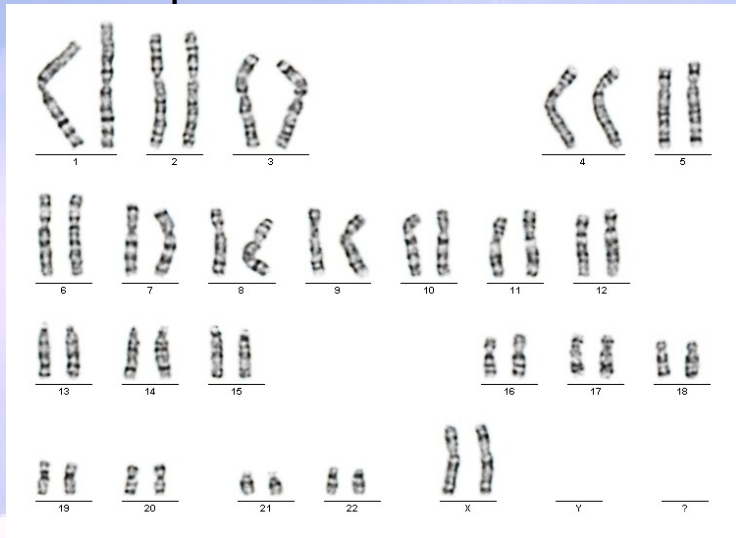
metoda MLPA (metoda molekulární cytogenetiky) – potvrzení nálezu

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

**strukturní změny – nebalancované aberace
mikrodelece**

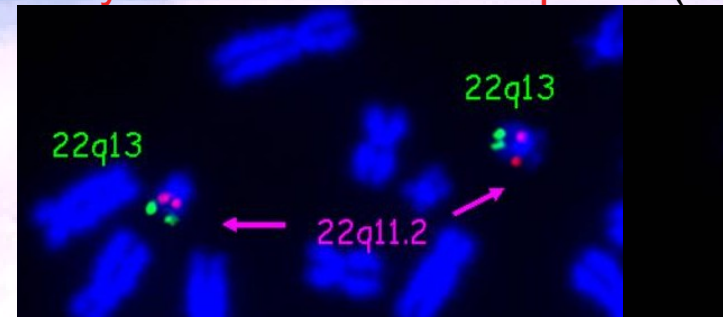
(pod rozlišovací schopností vyšetření chromosomů s G – pruhy)

vyšetření metodami
klasické cytogenetiky
G-pruhování chromosomů



normální karyotyp 46,XX

vyšetření metodami
molekulární cytogenetiky
– **vyšší rozlišovací schopnost (FISH)**



nalezena delece na 22. chromosomu
v oblasti 22q11-13 (Di George syndrom – VSV)

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

**strukturní změny – suspektně balancované přestavby
(apparently balanced rearrangement)**

Přestavby se jeví jako balancované (dostupnými metodami nebyla nalezena ztráta ani nadbytek genetického materiálu), ale pacient je postižen.

Možný důvod – vyřazení genu z funkce, ovlivnění regulačních oblastí genu, přítomnost kryptických komplexních chromosomových přestaveb v místech zlomů na chromosomech.



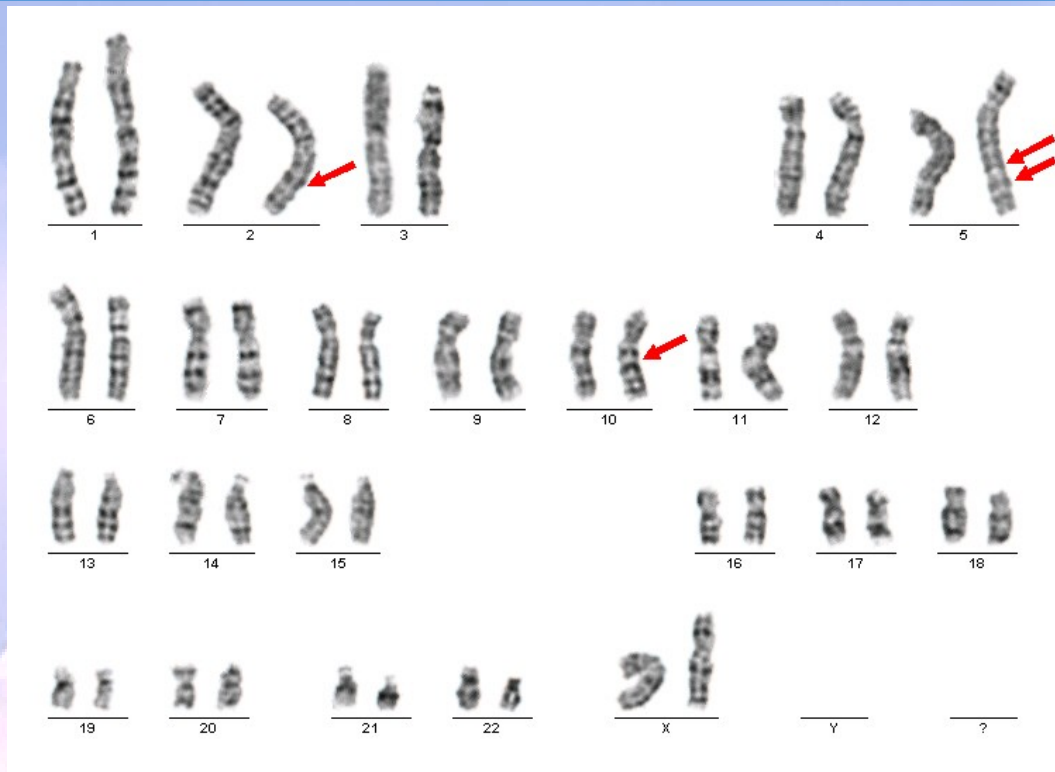
Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

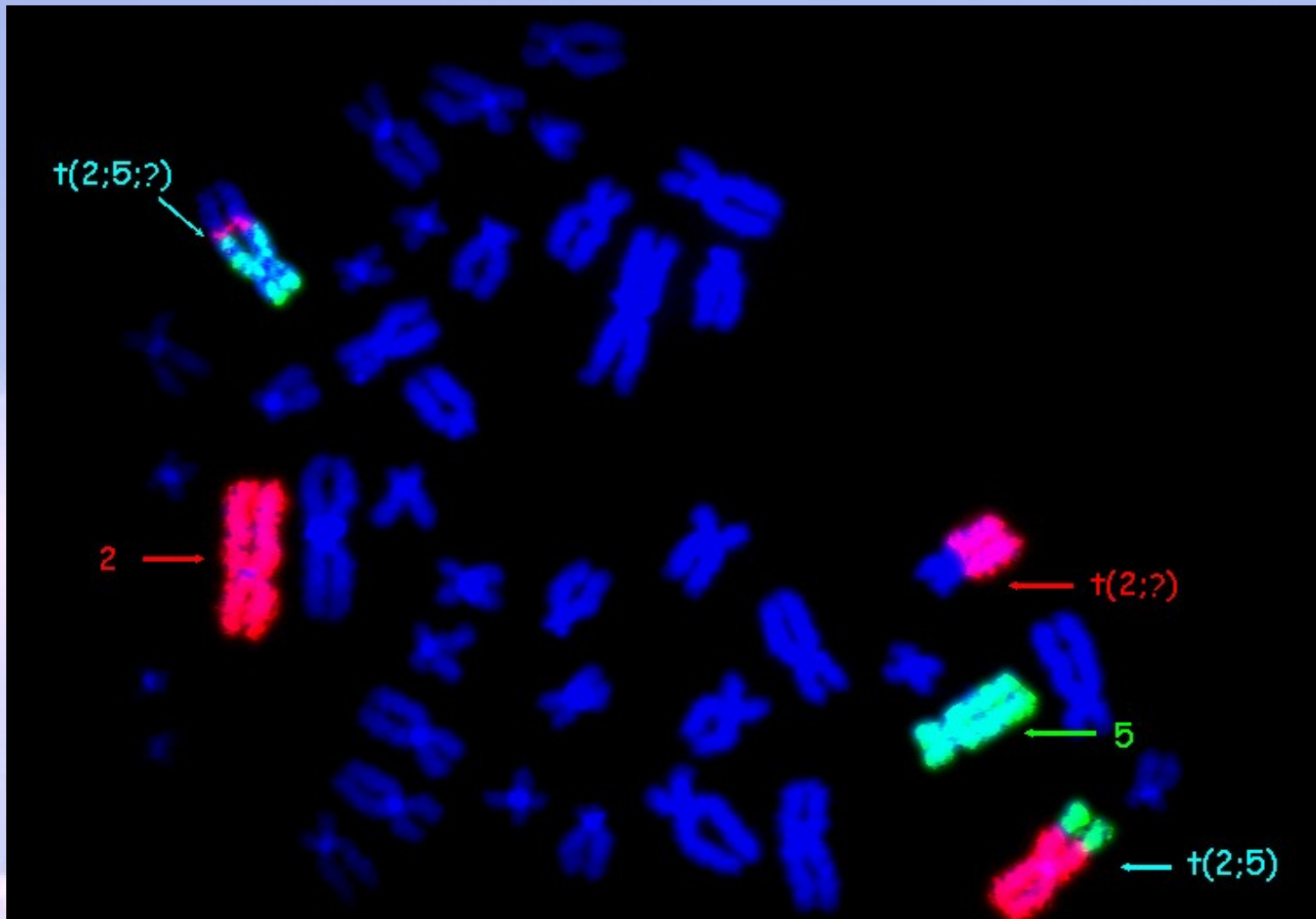
komplexní strukturní přestavby

46,XX,der(2)t(2;5),der(5)t(2;5;10),der(10)t(2;10) de novo
suspektně balancovaná translokace

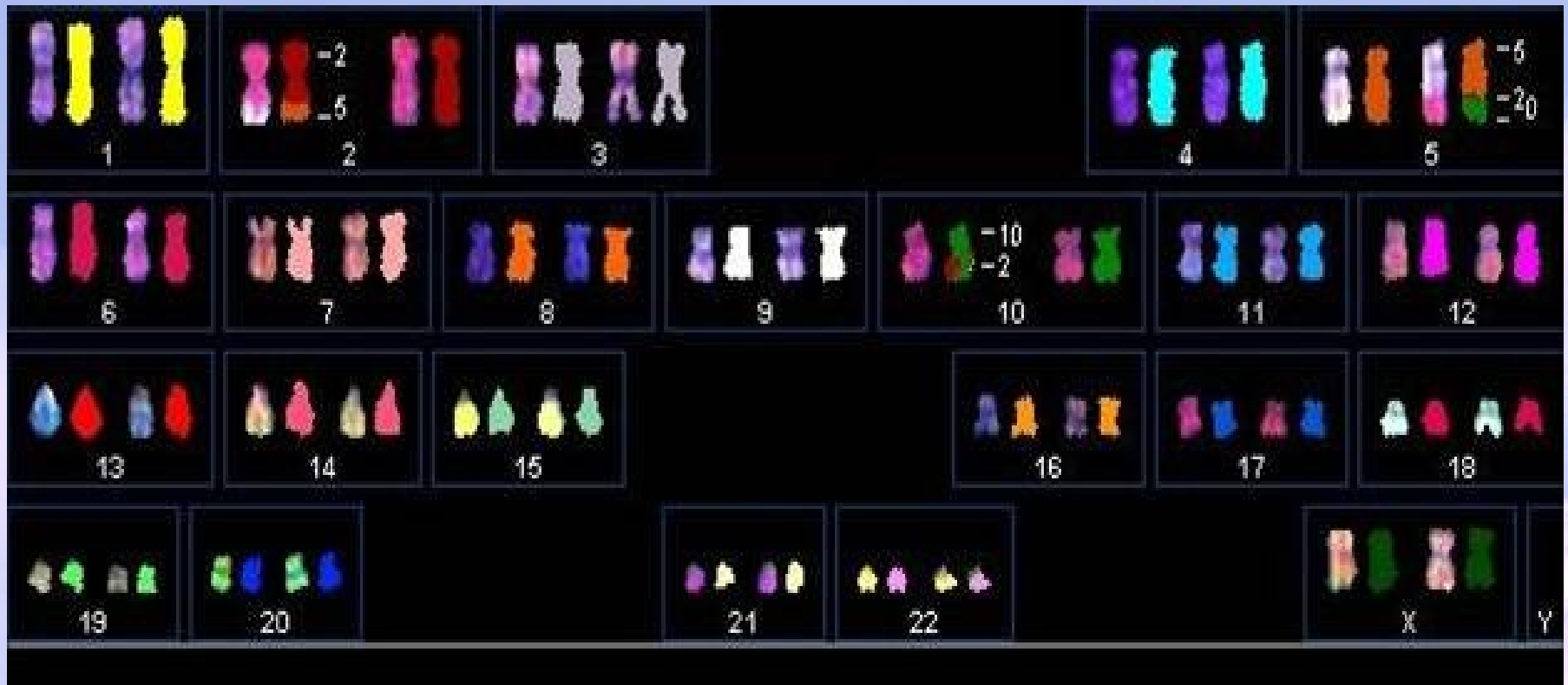


diskrétní stigmatizace, těžká PMR,
neprospívání

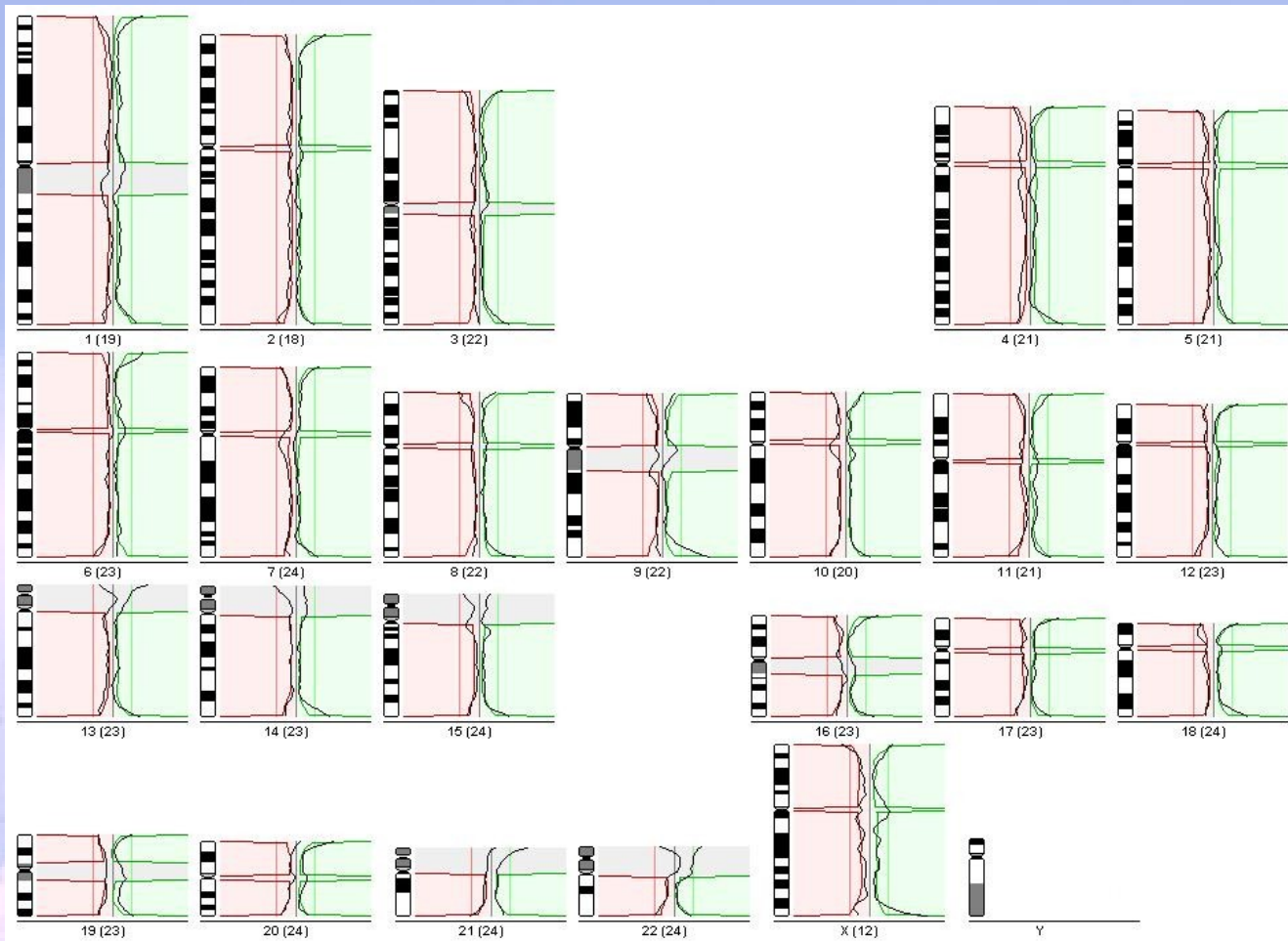
FISH: WCP 2, 5



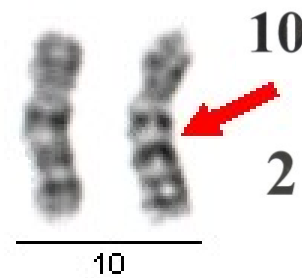
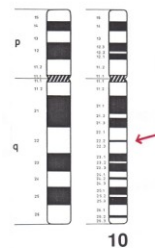
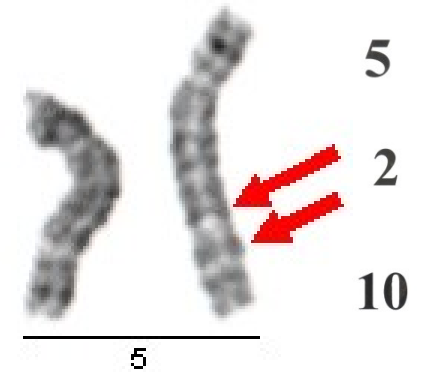
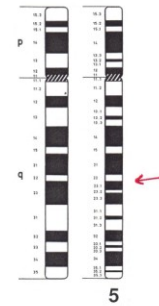
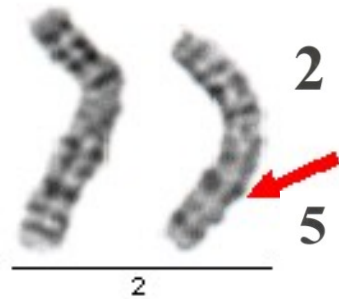
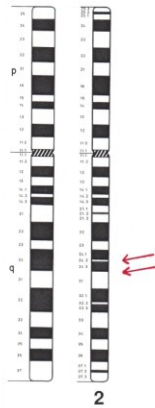
SKY: $t(2;5), t(2;5;10), t(2;10)$



HR-CGH: negativní suspektně balancovaná chromosomová přestavba



der(2)t(2;5) der(5)t(2;5;10)
der(10)t(2;10)



CHROMOSOMOVÉ ABERACE

komplexní strukturní přestavby

ZÁVĚR

- složité (komplexní) chromosomové přestavby nelze vyšetřit pouze metodami klasické cytogenetiky (G – pruhování chromosomů), nutné vyšetřit metodami molekulární cytogenetiky (SKY, CGH)

46,XX,der(2)t(2;5),der(5)t(2;5;10),der(10)t(2;10)de novo
suspektně balancovaná translokace

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) MOZAICISMUS

- má – li osoba chromosomovou abnormalitu, bývá většinou aberace přítomna ve všech jejích buňkách
- **mozaicismus = v těle jedince jsou přítomny 2 nebo více linie buněk s odlišnou chromosomovou konstitucí**
 - **nejčastější výskyt mozaiky gonosomů (poruchy fertility)**
45,X[6]/47,XXX[4]/46,XX[190]
 - mozaika autosomů
 - mozaika linie s normálním karyotypem s linií s Downovým syndromem
47,XY,+21[172]/46,XY[28]
 - např. linie s normálním karyotypem s linií s monosomií chromosomu 18
45,XX,-18[10]/46,XX,r(18)[190] – velmi zřídka
- ve formě mozaiky mohou být přítomny **numerické aberace i strukturní přestavby**, početní se vyskytují častěji
- nejčastější příčinou mozaicismu je **nondisjunkce v časném postzygotickém mitotickém dělení** (např. ztráta chromosomu č.21 z buňky zygoty s trisomií tohoto chromosomu)

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) DEFINICE MOZAIKY

Jedinec nebo tkáň obsahuje 2 nebo více geneticky odlišných buněčných klonů pocházejících z **jediné zygoty**, které vznikly v důsledku mutace nebo **nondisjunkce** na různých úrovních postzygotického dělení (mitotického dělení).

(Chiméra – buňky jedince pocházejí z více zygot.)

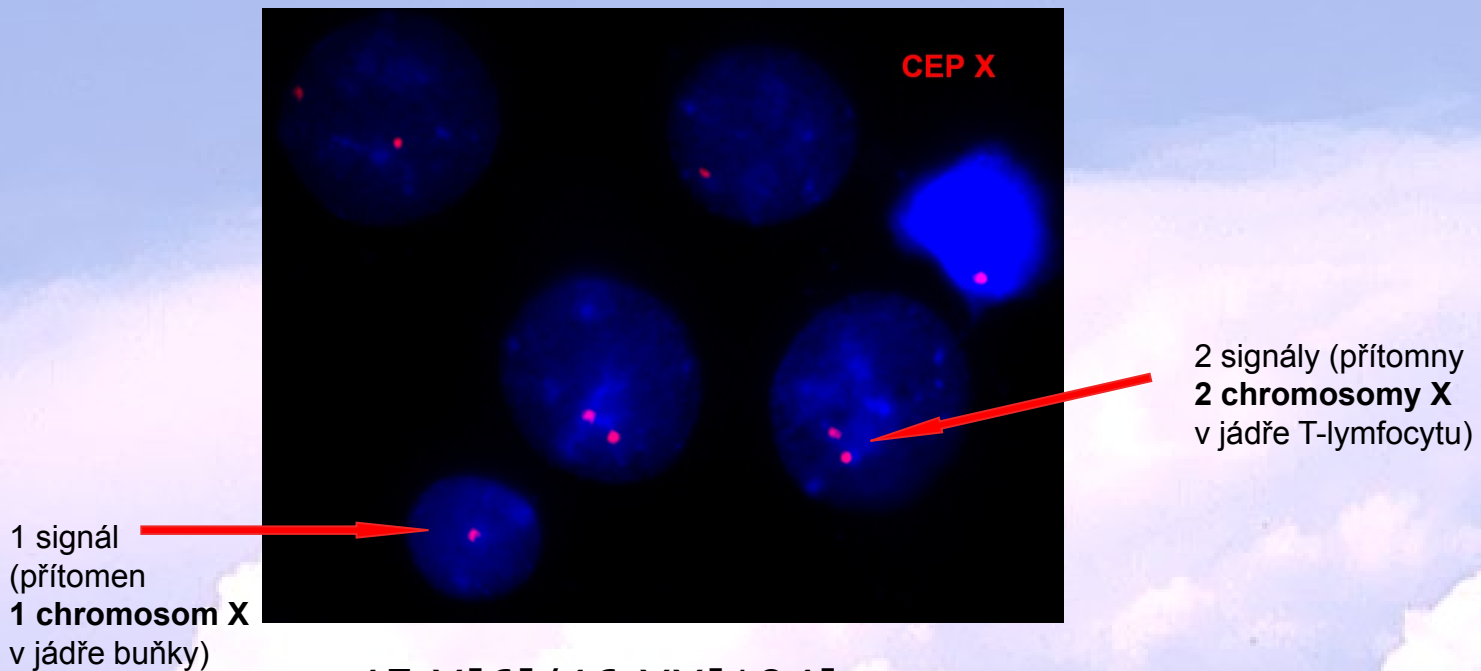
VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) MOZAICISMUS - gonosomy



45,X[6]/46,XX[194]

10-30 mitóz hodnotíme z chromosomů s G-pruhy, zbytek vyšetření metodou FISH z interfázních jader
3% hraniční patologický nález

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) MOZAICISMUS - gonosomy

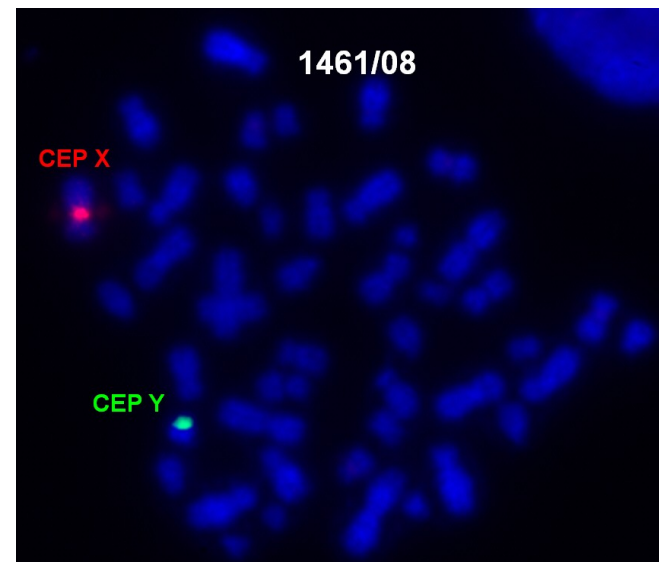


45,X[6]/46,XX[194]

vyšetření % zastoupení jednotlivých linií buněk v periferní krvi
pacientky metodou FISH z interfázních jader
(3% zastoupení buněčné linie 45,X)

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

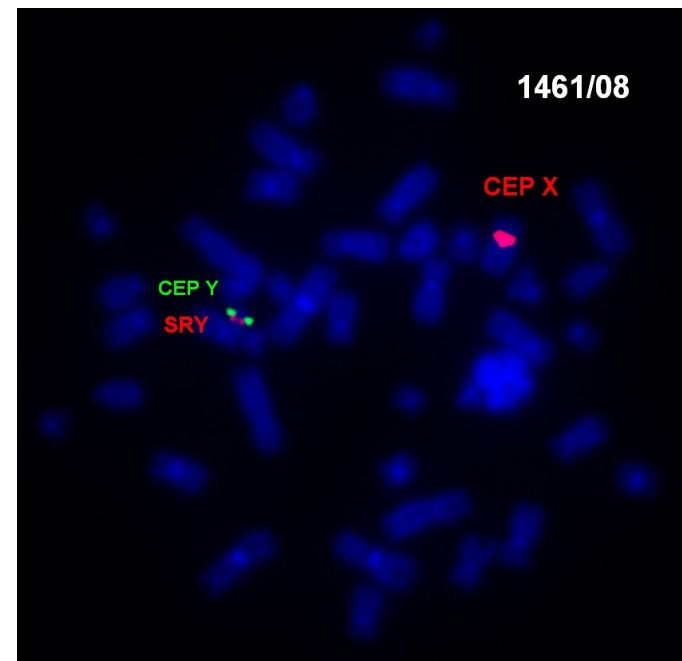
MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



buněčná linie 46,X,r(Y)?

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

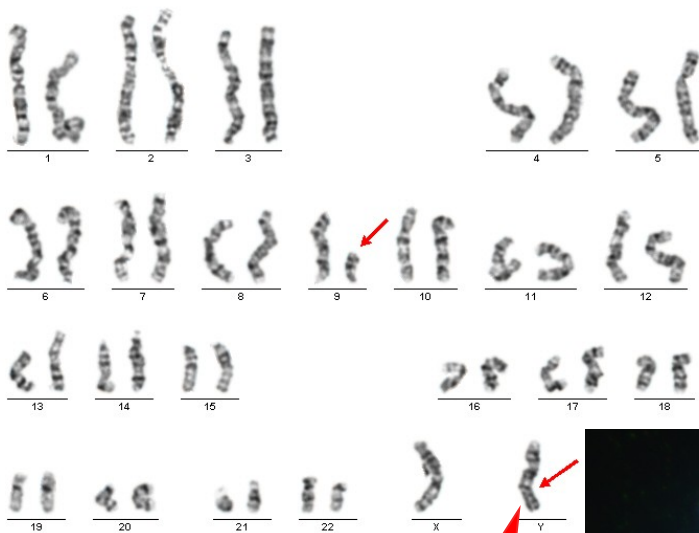
MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



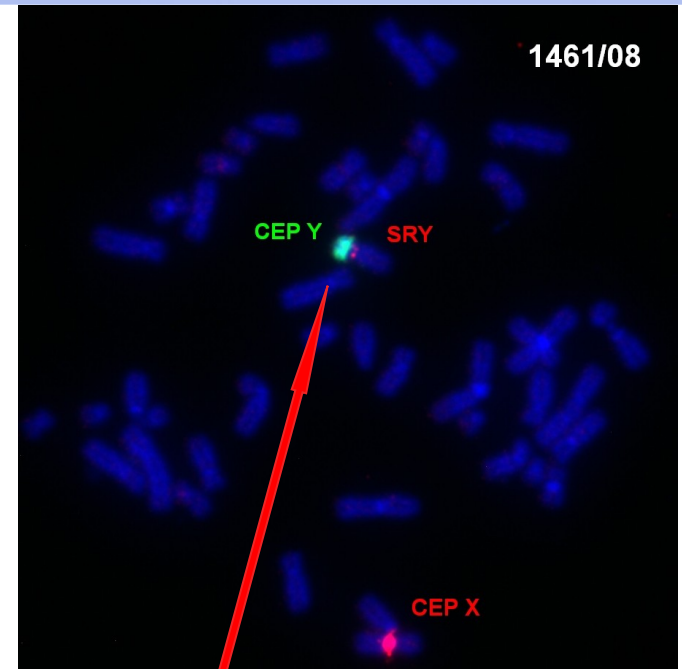
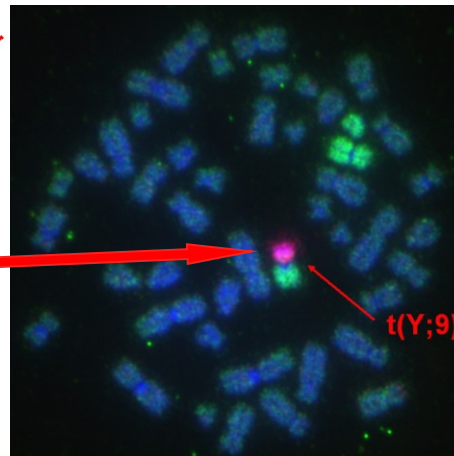
buněčná linie 46,X,mar(Y)?

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



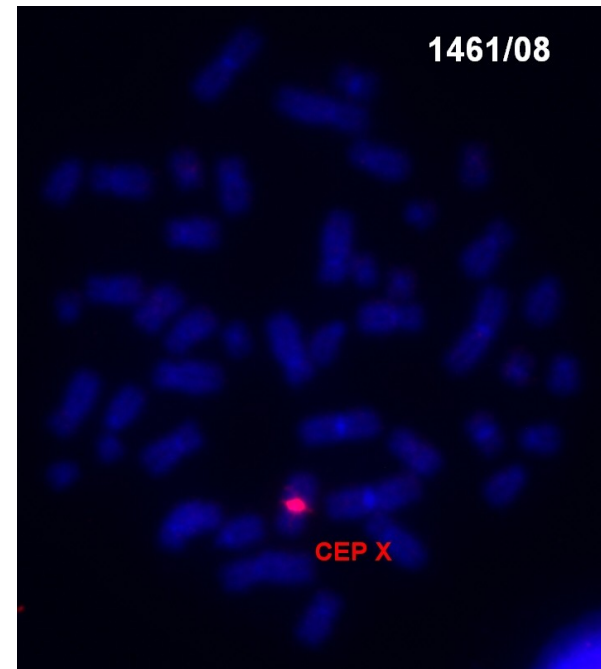
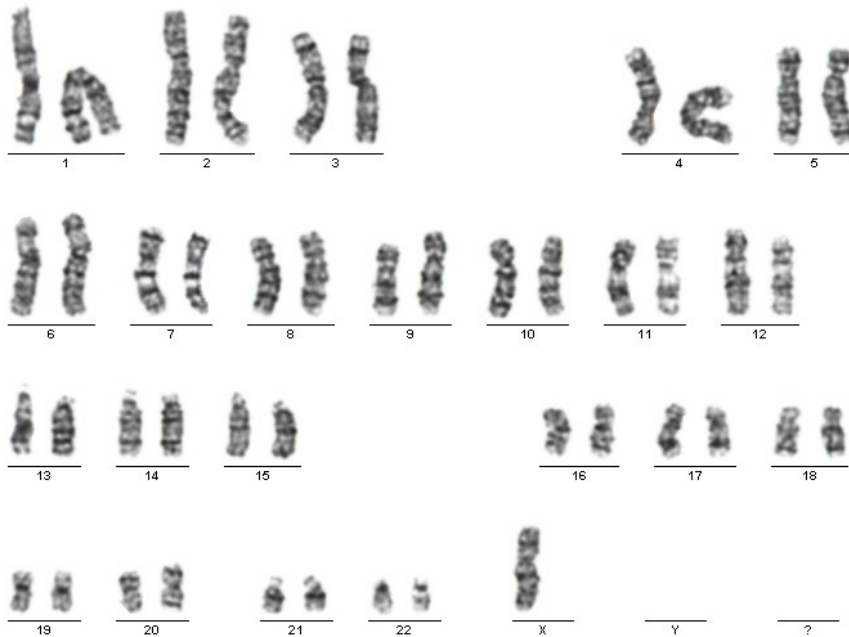
buněčná linie 46,X,t(Y;9)(p11?;q12?)



t(Y;?), přítomna oblast SRY
buněčná linie

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



buněčná linie 45,X

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace

složitý zápis i interpretace složitých karyotypů v mozaice

Karyotyp – chromosomy s G - pruhy:

46,X,r(Y)?[5]/46,X,t(Y;9)(p11.32?;q12?)[4]/45,X[1]

Nálezy metodou FISH:

Vyšetření na interfázních jádrech:

XY [120]

X [70]

Vyšetření na mitózách:

t(Y;?), přítomna oblast SRY [26]

X + marker z chromosomu Y, oblast SRY přítomna [17]

X [7]



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) MOZAICISMUS - význam

- je **obtížné posoudit** význam nálezu mozaiky
 - záleží na typu chromosomové abnormality
 - význam má % zastoupení linie s patologickým karyotypem
 - % zastoupení jednotlivých buněčných linií může být v různých tkáních rozdílné (vyšetření z periferní krve, stěru z bukalní sliznice pro ověření a porovnání)

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) MOZAICISMUS – prenatální diagnostika

- riziko vzniku **pseudomozaiky kultivačního původu**, potíže při interpretaci (kultivace 2 paralelních kultur, opakovaný odběr)
- vyšetření **choriových klků – extraembryonální tkáň, častý výskyt mozaikových karyotypů** (mitotická nondisjunkce) – diskrepance v nálezech u embrya a extraembryonální tkáni (embryo má kontrolní mechanismy limitující dělení abnormálních buněk, v choriu se abnormální buňky dělí)

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) MOZAICISMUS – prenatální diagnostika

- CVS – diskrepance v karyotypu embrya a extraembryonální tkáně
- vznik mozaiky v blastocystě před diferenciací na embryo a extraembryonální tkáň – mozaika přítomna v obou
 - vznik mozaiky v pozdějším stádiu v embryu nebo v extraembryonální tkáni (častěji) – mozaika přítomna jen tam, kde vznikla

placentární mozaicismus – zdroj falešně pozitivních výsledků

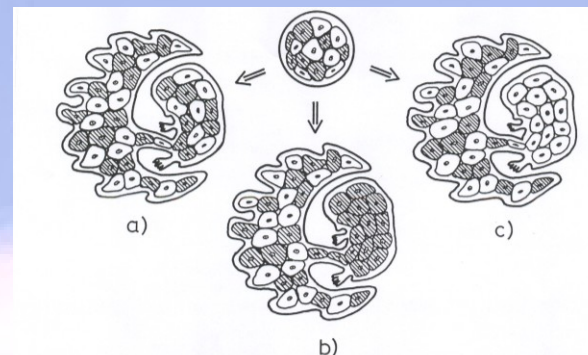
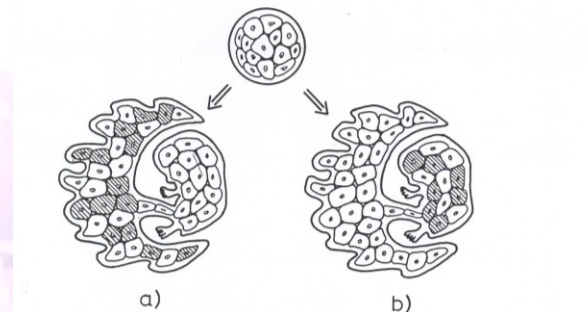


Fig. 1. Diagrammatic representation of the development of a mosaic morula resulting in a conceptus with chromosomal mosaicism involving both the chorion and the embryo; b, c conceptus with a nonmosaic embryo and mosaicism confined to the chorion



VÝZNAM VYŠETŘENÍ VCA

- objasnit **příčinu** zdravotních potíží pacienta
- stanovit **prognózu** onemocnění, nabídnout pacientovi **možnosti léčby** a péče
- **prevence výskytu** vrozených chromosomových aberací v rodině

VCA léčbou nevymizí



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VYŠETŘENÍ **ZÍSKANÝCH** CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ **u onkologických pacientů**



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VSTUPNÍ MATERIÁLY K VYŠETŘENÍ

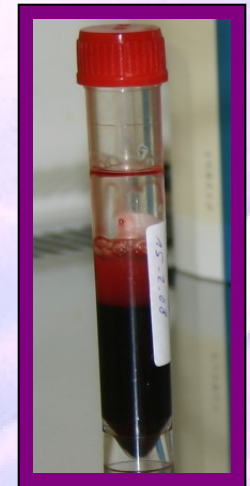
kostní dřeň



solidní nádory



periferní krev



VYŠETŘENÍ CHROMOSOMŮ

vyšetření v laboratořích
klasické a **molekulární** cytogenetiky

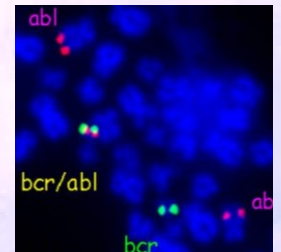
klasická cytogenetika – kultivace, zpracování vstupních materiálů založeny na obdobných principech

- **G-pruhování chromosomů**

molekulární cytogenetika – **metoda FISH, SKY, CGH a další metody**

stanovujeme **KARYOTYP MALIGNÍCH KLONŮ** –

v nádorové tkáni mohou být přítomny skupiny buněk s odlišným karyotypem – klony – v rámci klonu stejný karyotyp



ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE u onkologických pacientů

– souvisí se vznikem a progresí onkologického onemocnění (poruchy dělení somatických buněk), vyšetřujeme buňky postižené nádorovým bujením

- **početní abnormality**

- abnormality počtu chromosomových sad
 - polyploidie (hypo-, hyper- (di-, tri- atd.) ploidie)
- abnormality počtu chromosomů v páru
 - aneuploidie (trisomie, monosomie)- často se týká jiných chromosomů než u vrozených chromosomových aberací

- **strukturní abnormality**

- translokace, inverze, delece, duplikace, inserce, zvláštní typy chromosomů – konkrétní aberace odlišné od VCA
- amplifikace (mnohonásobné zmnožení onkogenu, detekovatelné cytogeneticky)
 - pouze u onkologických pacientů



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

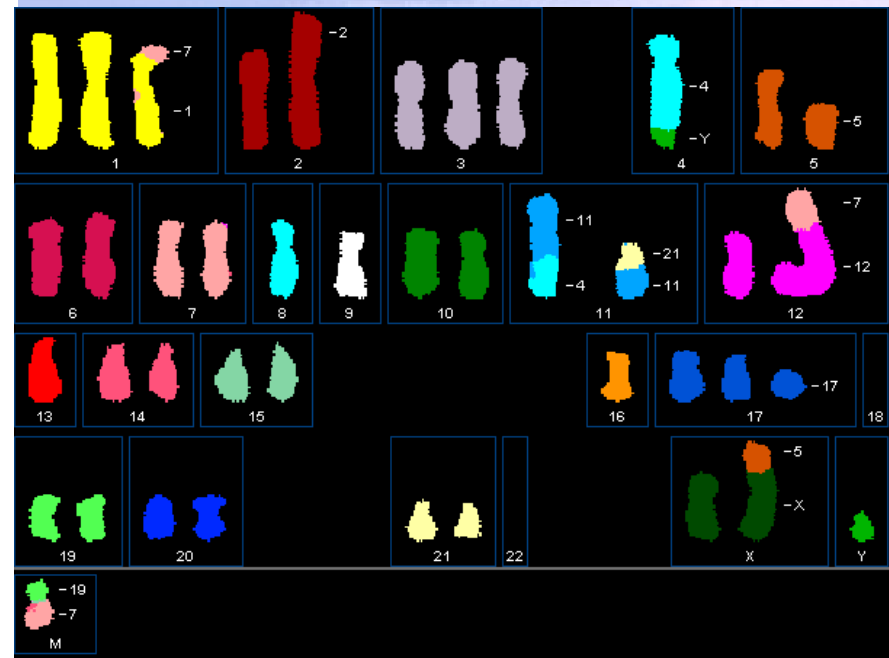
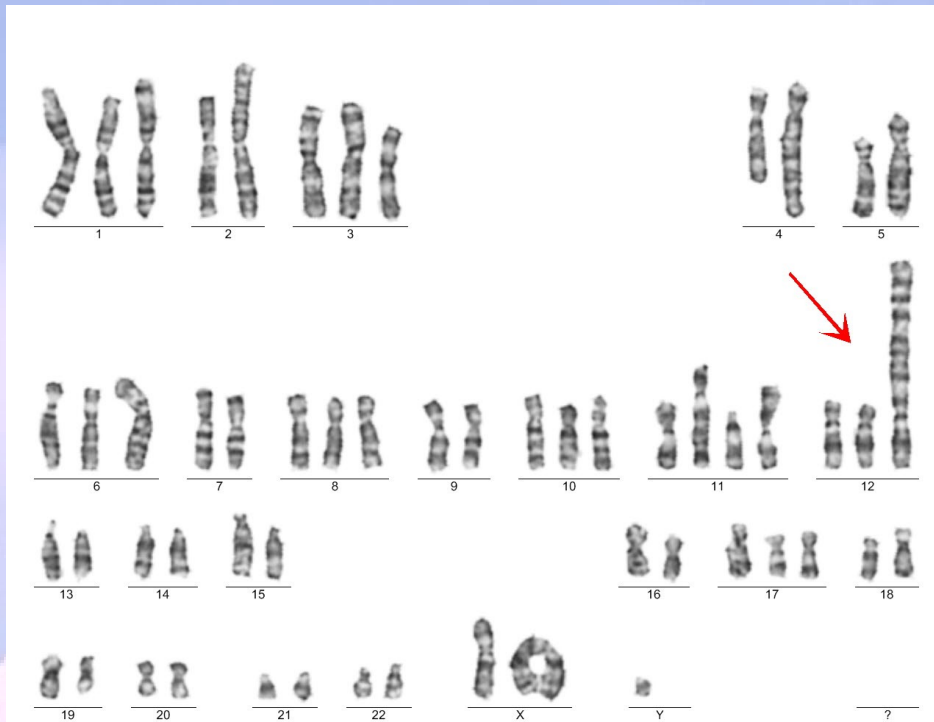


ONKOCYTOGENETIKA

komplexní karyotyp

56,XY,der(X)t(X;5),+der(1),add(2),+3,der(4)t(4;?),+6?,+8,
+10,der(11),+der(11)t(11;21)?,+der(11),+der(12)t(7;12)
qdp(12p),+17,der(18)

smíšený germinální tumor



ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (u onkologických pacientů) MOZAICISMUS

- nádorové buňky tvoří klony
- **klon - skupina geneticky identických buněk**
(v nádorové tkáni pacienta se může vyskytovat více buněčných klonů, každý z nich nese jiné aberace)

(stanovení **karyotypu maligních klonů**)



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VÝZNAM VYŠETŘENÍ ZÍSKANÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ u onkologických pacientů

U **onkologických pacientů** vyšetřujeme buňky postižené nádorovým bujením, v souvislosti s onemocněním vznikají chromosomové změny.

Cytogenetické vyšetření pomáhá **zpřesnit diagnózu, stanovit prognózu onemocnění monitorovat úspěšnost léčby** (záchrana života pacienta)

- některé translokace – vznik fúzních genů, jejichž produkty mají změněnou funkci podporující nebo způsobující nádorové bujení
- některé chromosomové změny souvisejí s horší/ lepší/ střední prognózou



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VYŠETŘENÍ **ZÍSKANÝCH** CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ v důsledku působení mutagenních faktorů prostředí - z periferní krve



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE

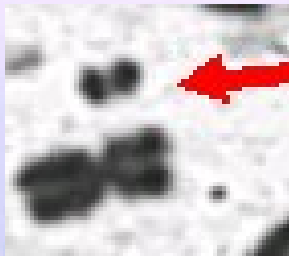
(vliv mutagenních faktorů prostředí)

- vlivem mutagenních faktorů prostředí dochází na chromosomech ke změnám (zlomy, vznik di-, tricentrických chromosomů, ring chromosomů ad.)
 - **nacházíme různé změny v různých buňkách**

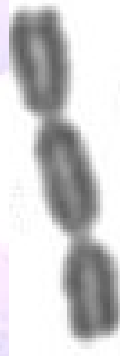
(v každé buňce jinou – nejedná se o mozaiku, ale o náhodné změny)

(stanovení % aberantních buněk, hraniční patologie opakovaně 5% ab. b.)

vyšetření z periferní krve metodou klasické cytogenetiky – konvenční barvení chromosomů



chrB



dic



ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE

(vliv mutagenních faktorů prostředí)
vyšetření z periferní krve

Stanovení % aberantních buněk – buněk s poškozeným chromosomem

Přítomnost aberací v somatických buňkách

- rychlejší stárnutí organismu
- vznik degenerativních onemocnění
- možné maligní zvrhnutí

Přítomnost aberací v gametách

- zvýšené riziko narození postiženého dítěte

Konvenční barvení chromosomů



ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA) příčiny vzniku

působení - **fyzikálních faktorů**

(ionizující záření)

- **chemických látek**

(cytostatika, imunosupresiva, oxidační,
alkylační činidla ad. látky používané
v průmyslu)

- **biologických faktorů**

(virové infekce – pravé neštovice, spalničky,
zarděnky ad.)



ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA) typy aberací

- chromatidové aberace – gapy na 1 chromatidě
 - zlom na 1 chromatidě
 - chromatidové výměny
- chromosomové aberace – gapy na 2 chromatidách
 - zlomy na 2 chromatidách
 - kruhové chromosomy
 - di- a vícecetrické chromosomy

viz základní přednáška



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VROZENÉ ABERACE / ZÍSKANÉ ABERACE (mutagenní faktory)

důležité odlišnosti mezi přípravou preparátů z periferní krve pro:

1. **stanovení karyotypu** – chromosomy s G – pruhy
 - délka kultivace 72 hodin
 - G-pruhování = inkubace v trypsinu + směs barviv Giemsa – Romanowski
 - zajímá nás typ aberace, snažíme se ji co nejpřesněji definovat
2. **stanovení % aberantních buněk** – chromosomy konvenčně barvené
 - délka kultivace 48 hodin (je třeba zachytit 1. buněčné dělení – později dochází k opravě aberací)
 - konvenční barvení = pouze Giemsa – Romanowski bez trypsinu
 - nezajímá nás konkrétní typ aberace, pouze jestli je/není v dané buňce některá přítomna



Klinické indikace k vyšetření ZCA

- práce v riziku (kontakt se škodlivými látkami, zářením), vstupní prohlídky na pracovištích se zvýšeným rizikem
- před chemoterapií, po chemoterapii, po jiné dlouhodobé léčbě
- kontrolní vyšetření u podchycených případů

aberrace vymizí po léčbě (vitamíny)



děkuji za pozornost

