

KLINICKÁ CYTOGENETIKA SEMINÁŘ

Mgr. Hanáková



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



ODDĚLENÍ LÉKAŘSKÉ GENETIKY FN BRNO

ambulance

cytogenetické laboratoře

laboratoře klasické cytogenetiky

laboratoř prenatální cytogenetiky

laboratoř postnatální cytogenetiky

stanovení karyotypu

G – pruhování chromosomů

laboratoř molekulární
genetiky

laboratoř molekulární cytogenetiky

metody – FISH, SKY, CGH, MLPA



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



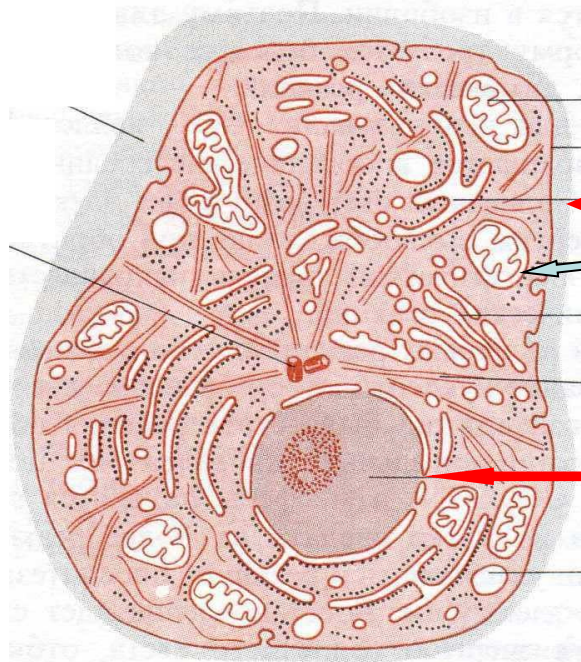
ROZDÍLY MEZI VYŠETŘENÍMI V JEDNOTLIVÝCH TYPECH LABORATOŘÍ



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



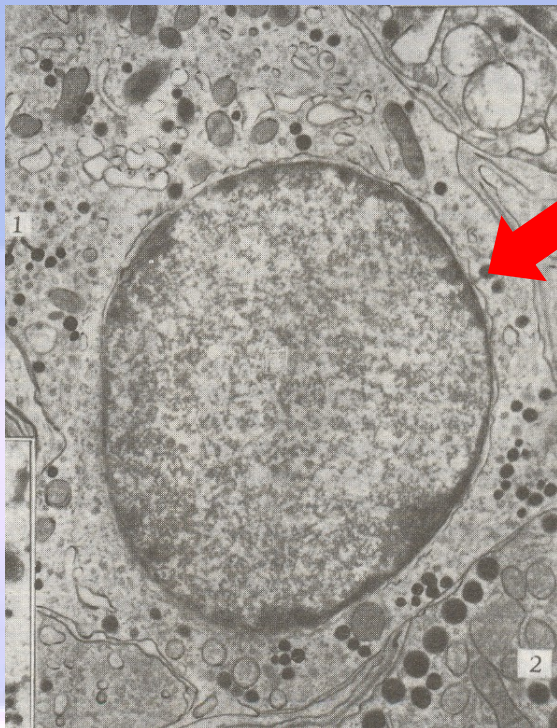
SCHEMA LIDSKÉ BUŇKY



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**

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

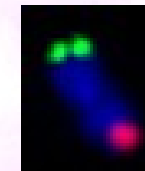
- **vyšetření chromosomů, interfázních jader i izolované DNA**

- 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),
interfázní 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
- laboratoře klasické cytogenetiky – specializované na konkrétní typ vstupních materiálů – **odlišné kultivační postupy**
- laboratoře molekulární cytogenetiky a molekulární genetiky – vyšetřují genetický materiál ze všech typů vstupních materiálů



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VYŠETŘENÍ CHROMOSOMŮ

vyšetření v laboratořích **klasické** (postnatální a prenatální) cytogenetiky
a **molekulární** cytogenetiky

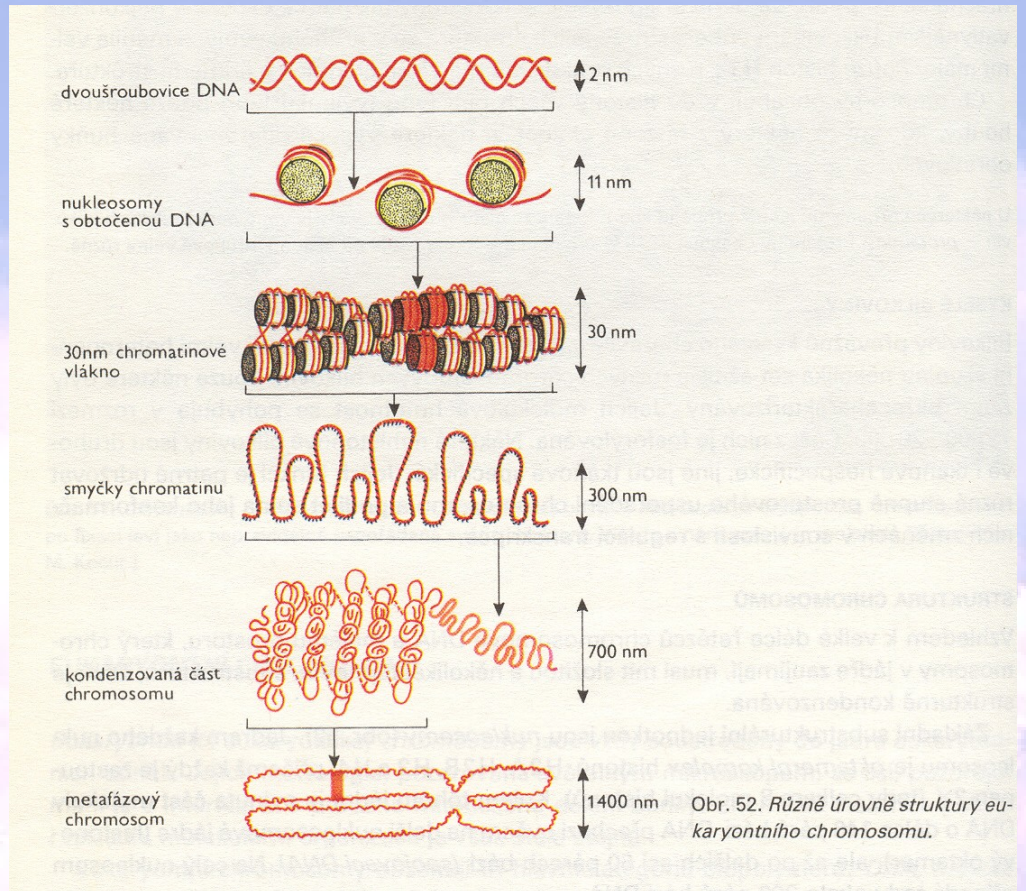


Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



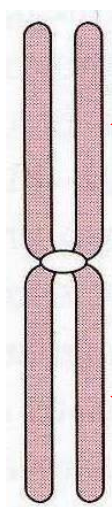
SPIRALIZACE CHROMOSOMŮ

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



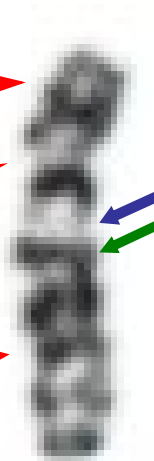
p - krátká raménka

centromera

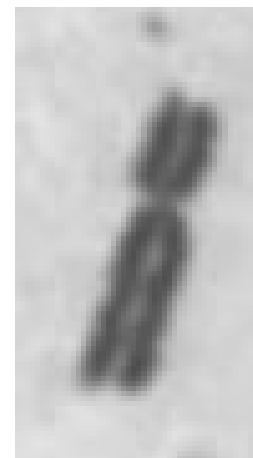
q - dlouhá raménka

sesterské chromatidy
(identické kopie)

chromosom s G- pruhy



chromosom obarvený
po celé délce

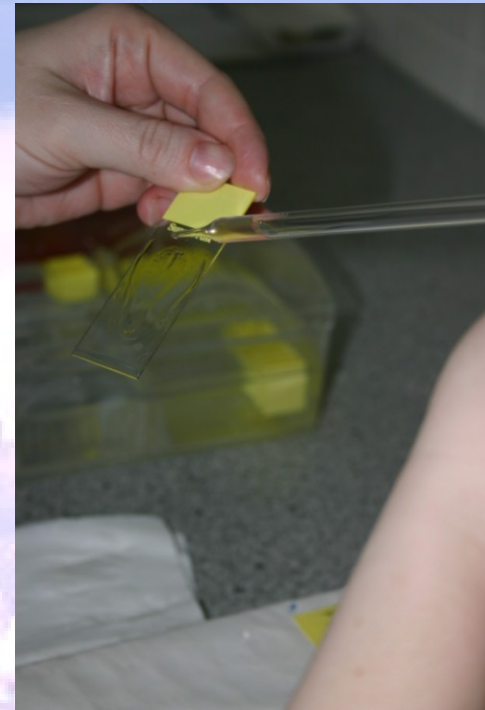


dvouchromatidový metafázní chromosom

METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

zpracování suspenze

- vykapání suspenze na podložní sklíčka



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

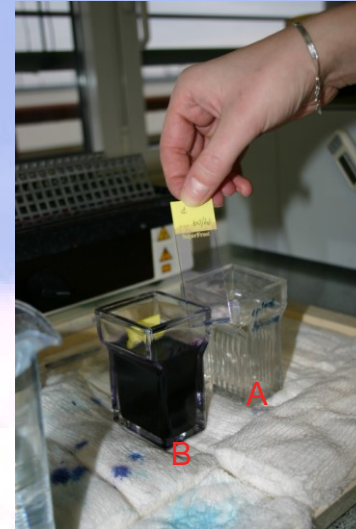
pruhování chromosomů

• pruhování chromosomů

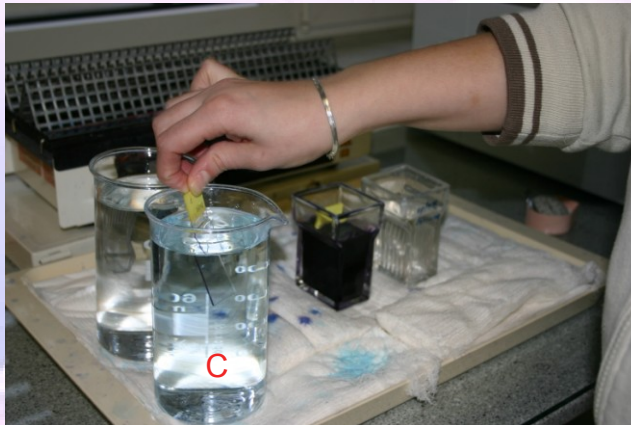
1 – inkubace
preparátu
v roztoku
trypsinu
(dochází
k **natrávení**
chromosomových
proteinů)



2 – oplach
preparátu
v Sørensenově
fosfátovém
pufru (A),
barvení
barvivem
Giemsa-
Romanowski (B)



3 – oplach
ve vodě (C)



4 – sušení
sklíček
na sušící
plotýnce



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

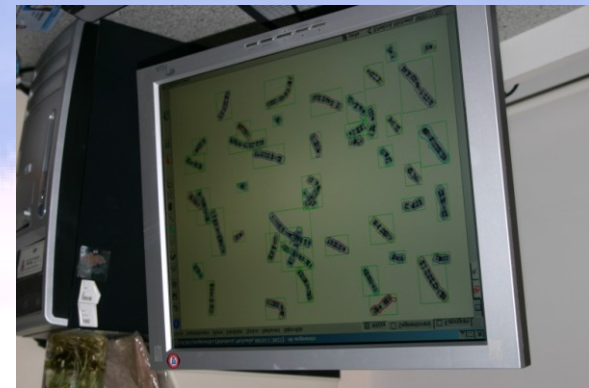


METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

hodnocení

ke třídění chromosomů a sestavení karyotypu lze využít počítačového programu Lucia

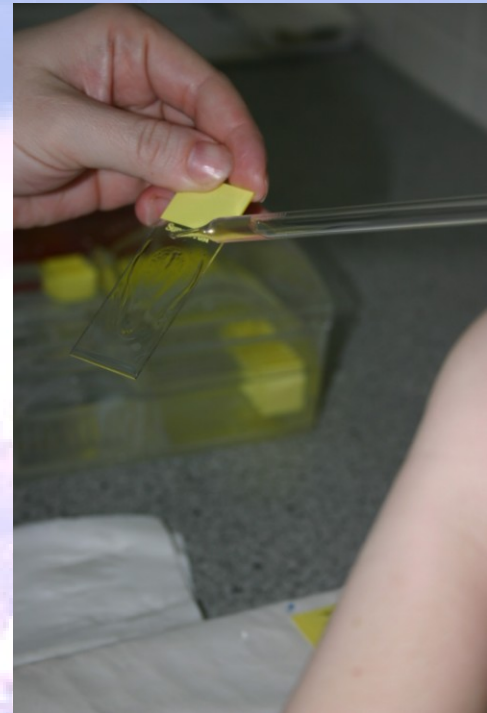
světelný mikroskop
s CCD kamerou
napojený na počítač



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

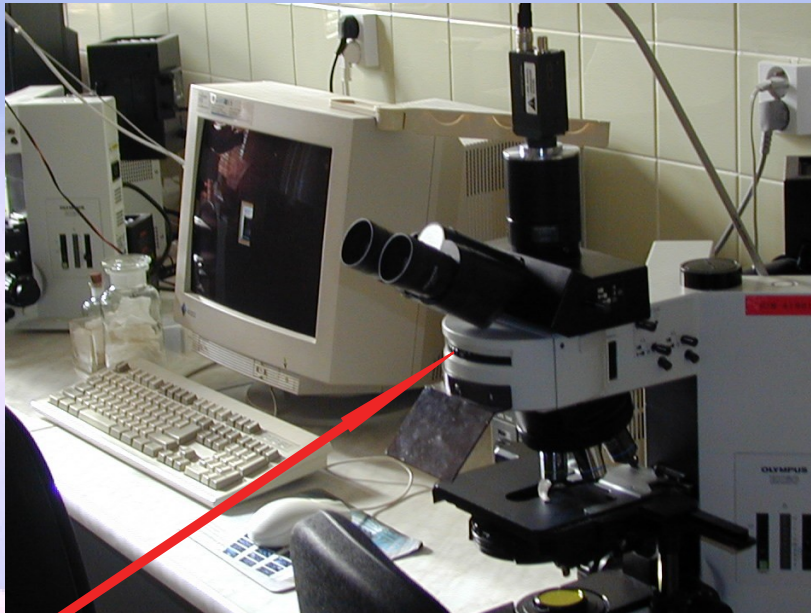
zpracování suspenze

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



METODY MOLEKULÁRNÍ CYTOGENETIKY hodnocení

chromosomy fluorescenčně značené hodnotíme ve **fluorescenčním mikroskopu**, zdroj světla - **krátkovlnná část spektra** (např. rtuťová výbojka)



speciální filtry

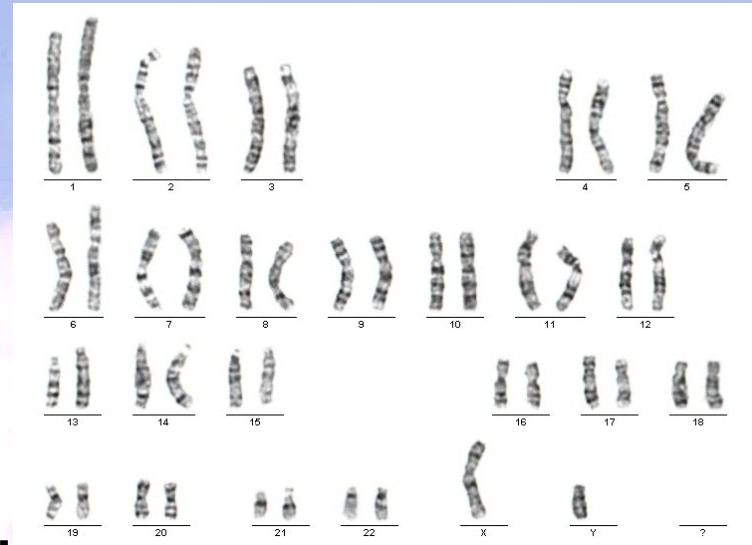


zdroj krátkovlnného
vysokoenergetického záření

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)

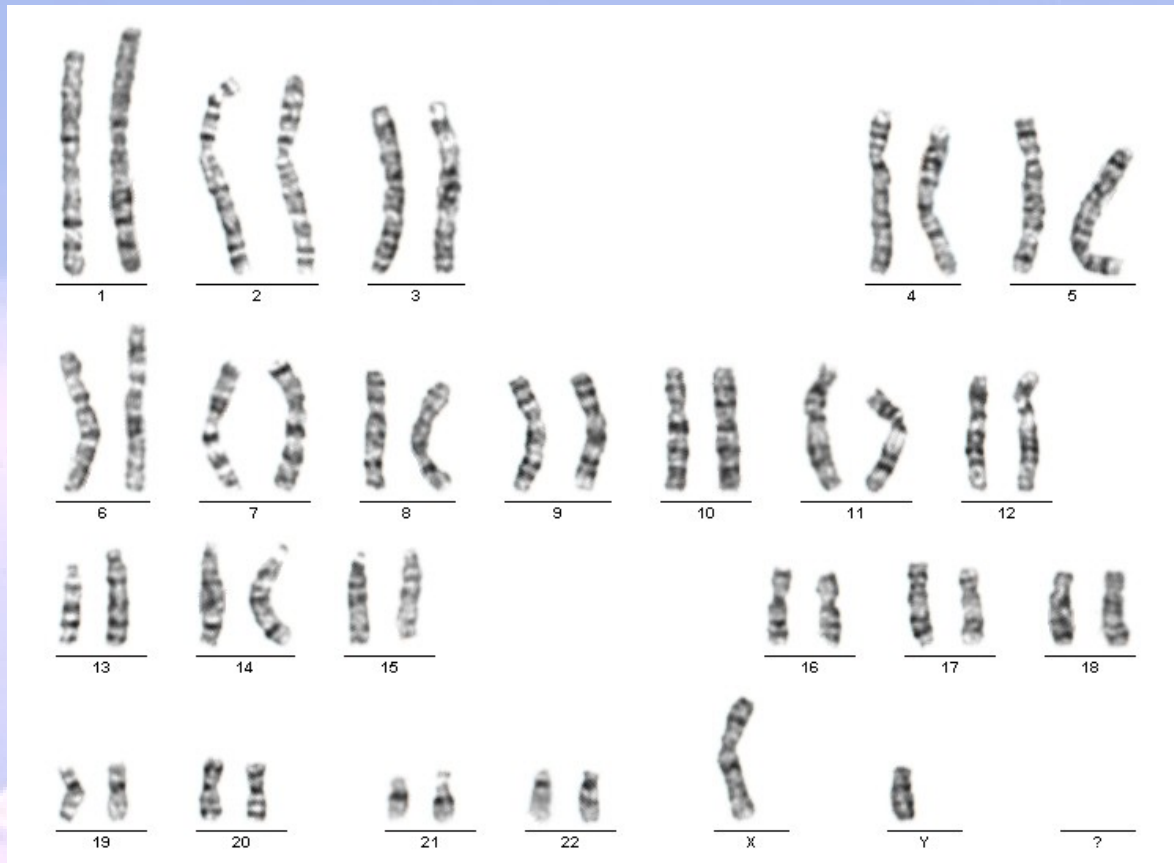


obrázek = utříděný soubor chromosomů jednoho jádra, který vypovídá o chromosomech i v ostatních buňkách pacienta

CHROMOSOMY V PRAXI

normální mužský karyotyp

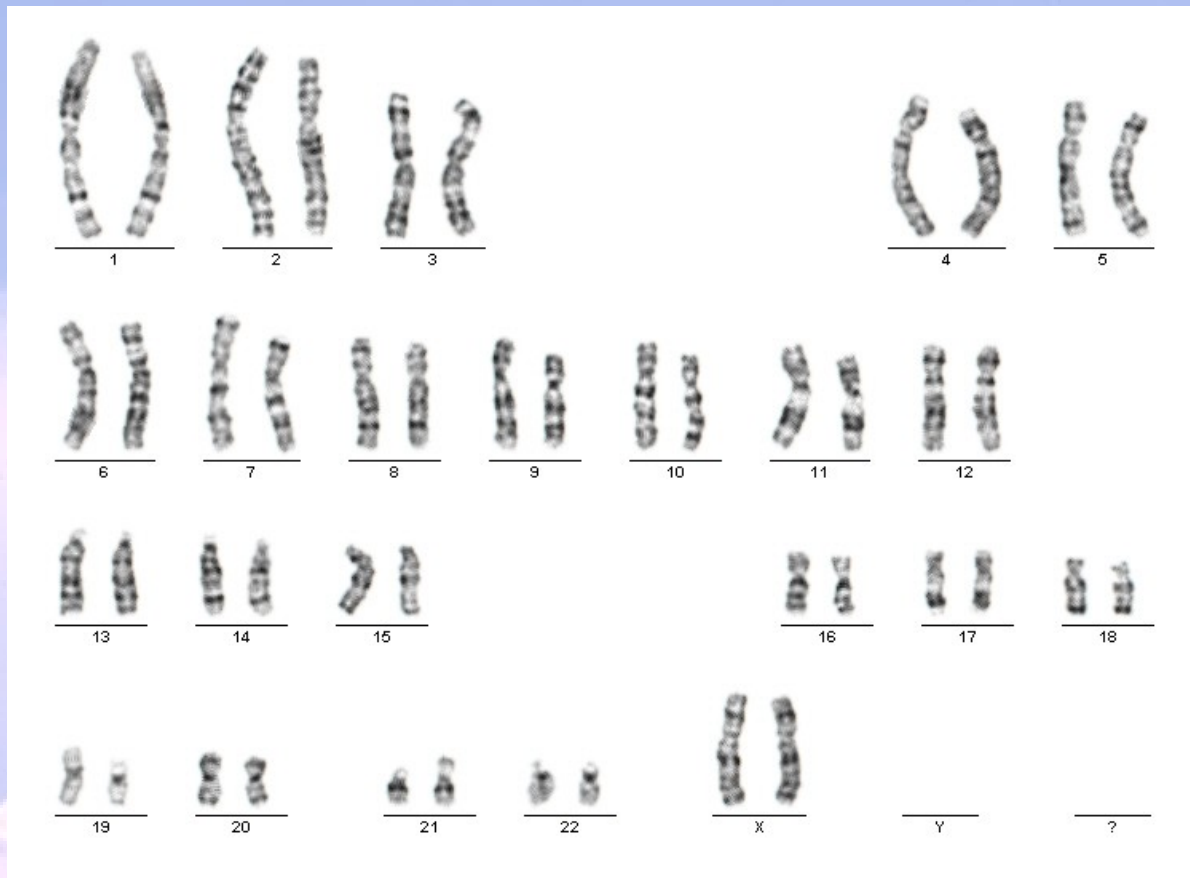
46,XY



CHROMOSOMY V PRAXI

normální ženský karyotyp

46,XX



CHROMOSOMOVÉ ABERACE (CHA)

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



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE

stanovení karyotypu

ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE

(v souvislosti s onkologickým onemocněním)

stanovení karyotypu maligních klonů

u obou typů vyšetření je metodou 1. volby vyšetření karyotypu / karyotypu maligních klonů metodou **G – pruhování chromosomů**.



VROZENÉ/ZÍSKANÉ ABERACE

vrozené – vznik *de novo* - poruchy v procesu **meiózy**
(tvorby gamet z primárních oocytů a spermatocytů)
- **zděděné** – potomci rodičů – nositelů balancovaných
přestaveb

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

Získané v souvislosti s **působením mutagenních faktorů prostředí**
na člověka – práce v riziku (záření, chemické látky), léky, virové infekce
- **speciální typ vyšetření, bude vysvětleno samostatně v závěru prezentace**
chromosomy obarvené po celé délce, metoda klasické cytogenetiky



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**

POČETNÍ A STRUKTURNÍ ABERACE vrozené a získané u onkologických pacientů

- **početní abnormality**
- polyploidie (hypo – hyper – ploidie) – získané (onko),
vrozené (krátké přežití)
- abnormality počtu chromosomů v páru
- aneuploidie (trisomie, monosomie)- vrozené i získané (onko)
- **strukturní abnormality**
- translokace, inverze, delece, duplikace, inserce, zvláštní
typy chromosomů – vrozené i získané (onko)
- amplifikace (mnohonásobné zmnožení onkogenu, detekovatelné cytogeneticky)
– pouze získané (onko)

ROZDÍLY MEZI VROZENÝMI CHA A ZÍSKANÝMI CHA U ONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ

Většinu změn lze zařadit do **stejných kategorií chromosomových aberací** (aneuploidie, translokace....), ale konkrétní změny jsou **specifické (jiné)** u pacientů, které vyšetřujeme v souvislosti s dědičnými změnami v karyotypu a u onkologických pacientů

Rozdílný význam vyšetření vrozených aberací a získaných v souvislosti s onkologickým onemocněním:

- u pacientů s **poruchami fertility** a u pacientů se **stigmatizací** či **zdravotními, vývojovými ad. problémy** nás zajímá **otázka dědičnosti chromosomových změn** (jsou možnosti léčby příznaků onemocnění, ale samotné vrozené chromosomové aberace léčbou nevymizí)
- u **onkologických pacientů** vyšetřujeme buňky postižené nádorovým bujením, v souvislosti s onemocněním vznikají chromosomové změny. Cytogenetické vyšetření pomáhá **zpřesnit diagnózu, stanovit prognózu onemocnění a monitorovat úspěšnost léčby** (záchrana života pacienta, otázka dědičných genetických predispozic – jiná problematika)
 - 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



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)

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



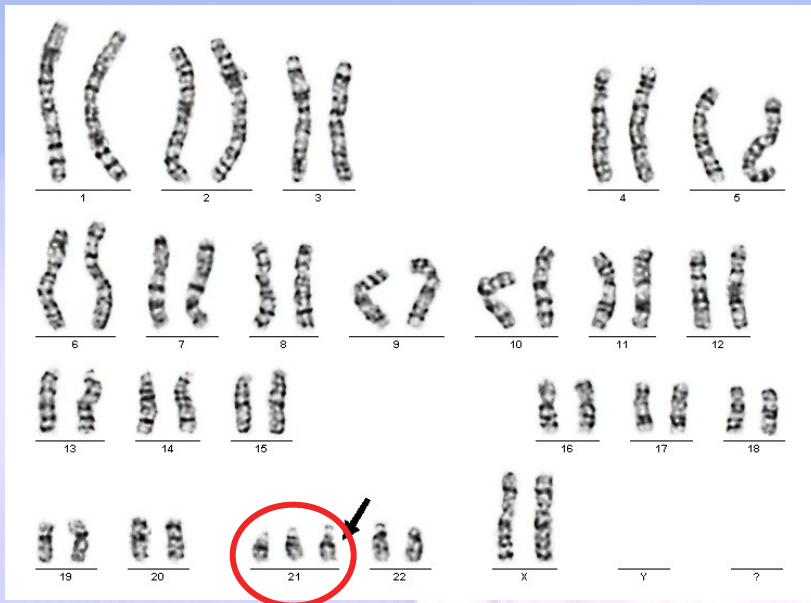
Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



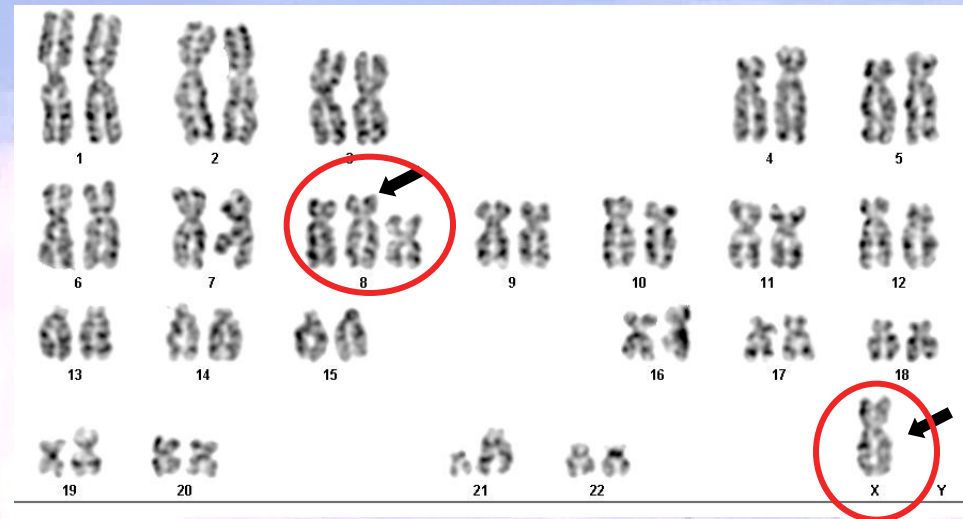
VROZENÉ / ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE - příklady

početní změny – aneuploidie – trisomie, monosomie
nebalancovaný karyotyp

G-pruhování chromosomů (klasická cytogenetika)



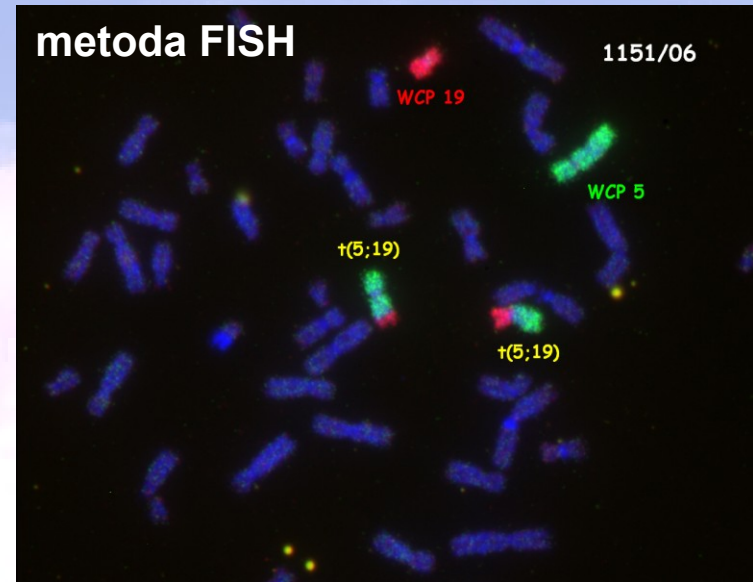
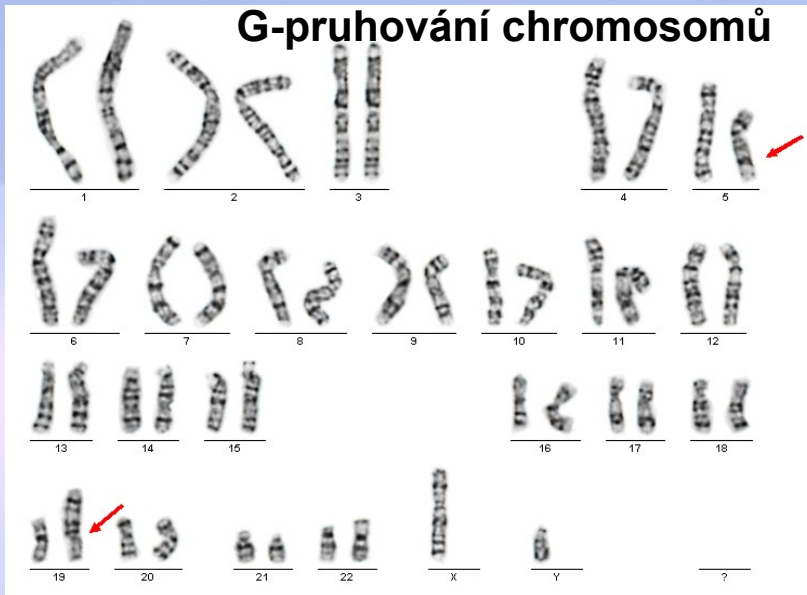
Downův syndrom 47,XX,+21
vrozená chromosomová aberace



46,X,-X,+8, t(8;21),t(19;21)
onkologický pacient
získané chromosomové aberace

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) !!!!!!!!!!!!!**



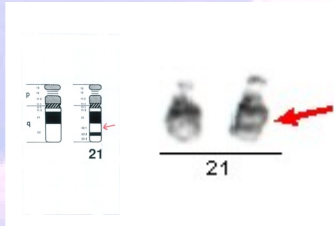
VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

strukturní změny

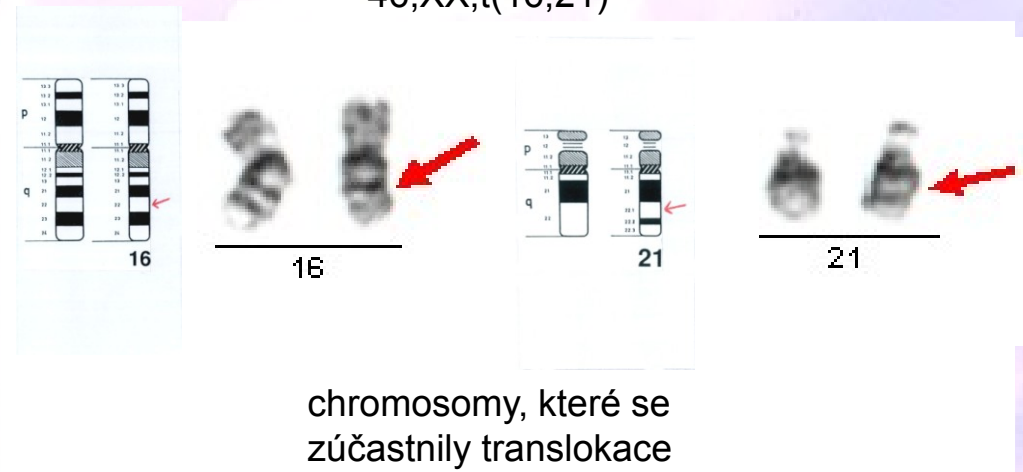
**– např. translokace - derivovaný chromosom
vztah mezi balancovaným karyotypem
a zděděnou formou nebalancovaného karyotypu**

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

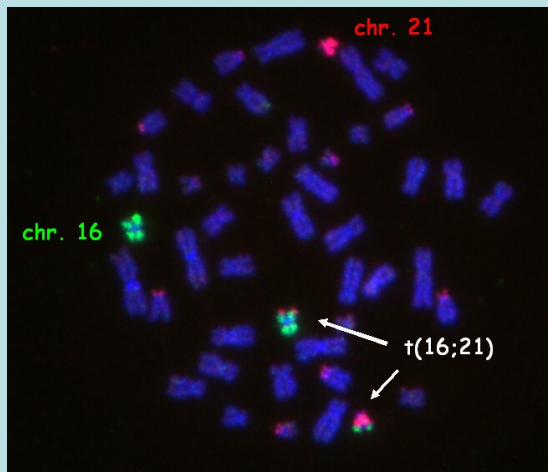
46,XY,der(21)t(16;21)(q22;q22.1)mat

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

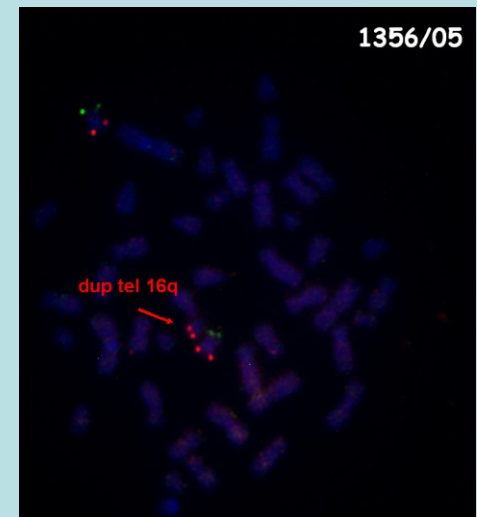
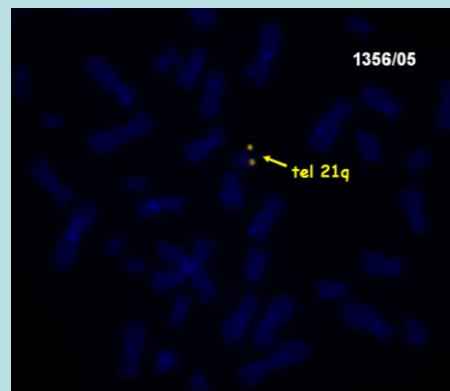
strukturní změny

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

matka



potomek



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)

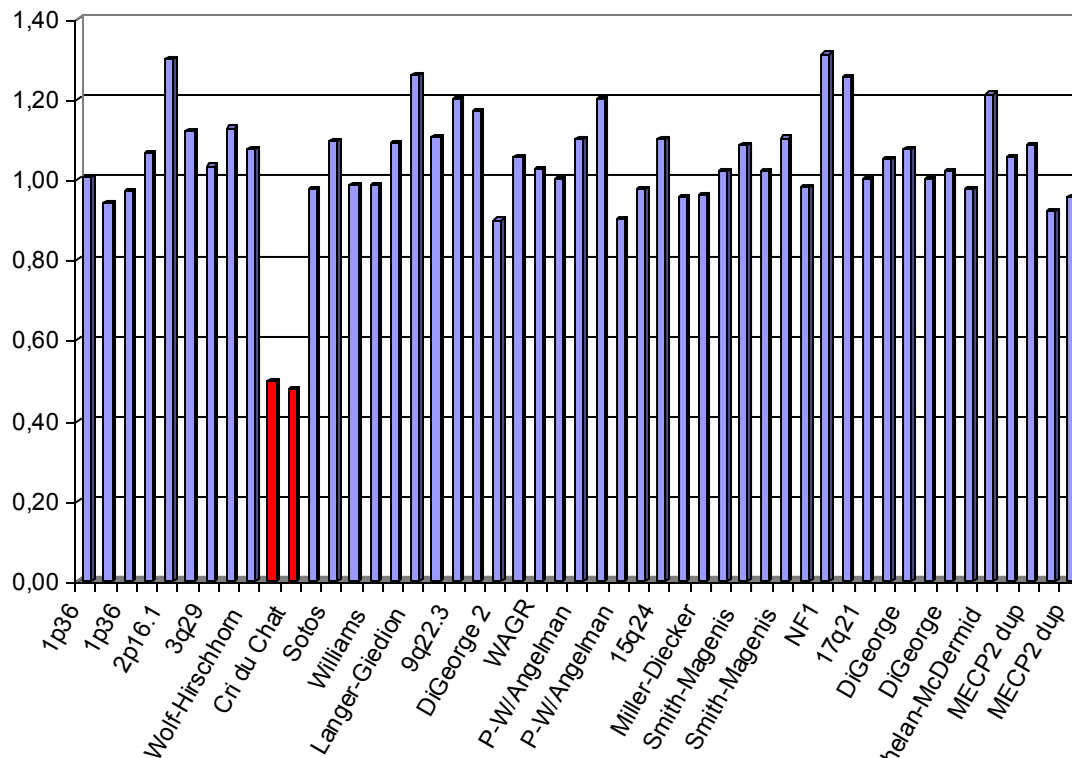


46,XX,del(5)(p14.1)

syndrom Cri du Chat

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

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



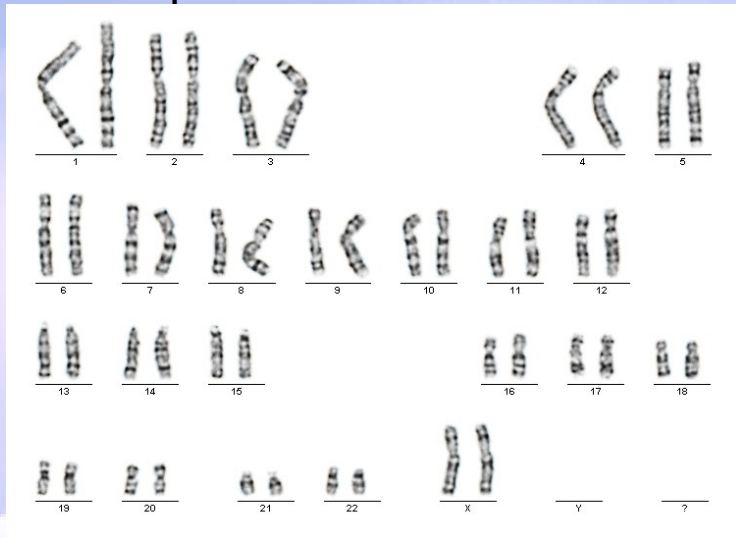
metoda MLPA (metoda molekulární cytogenetiky) – potvrzení nálezu

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

**strukturní změny – nebalancované aberace
mikrodelece**

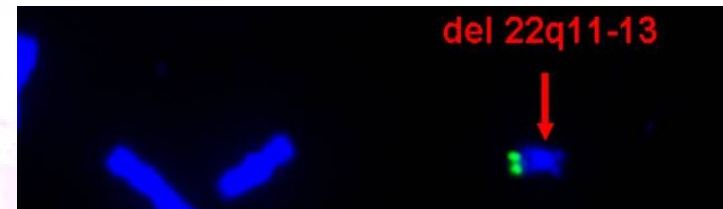
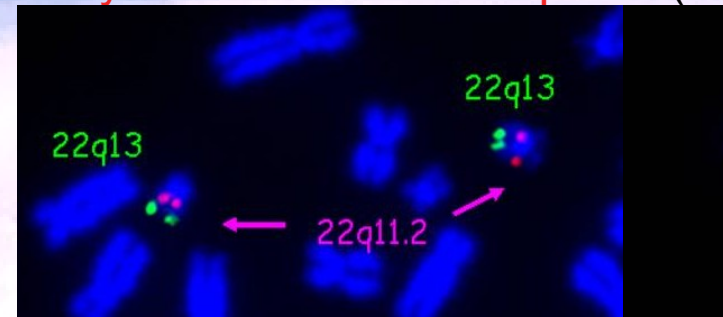
(pod rozlišovací schopností vyšetření chromosomů s G – pruhy)

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.



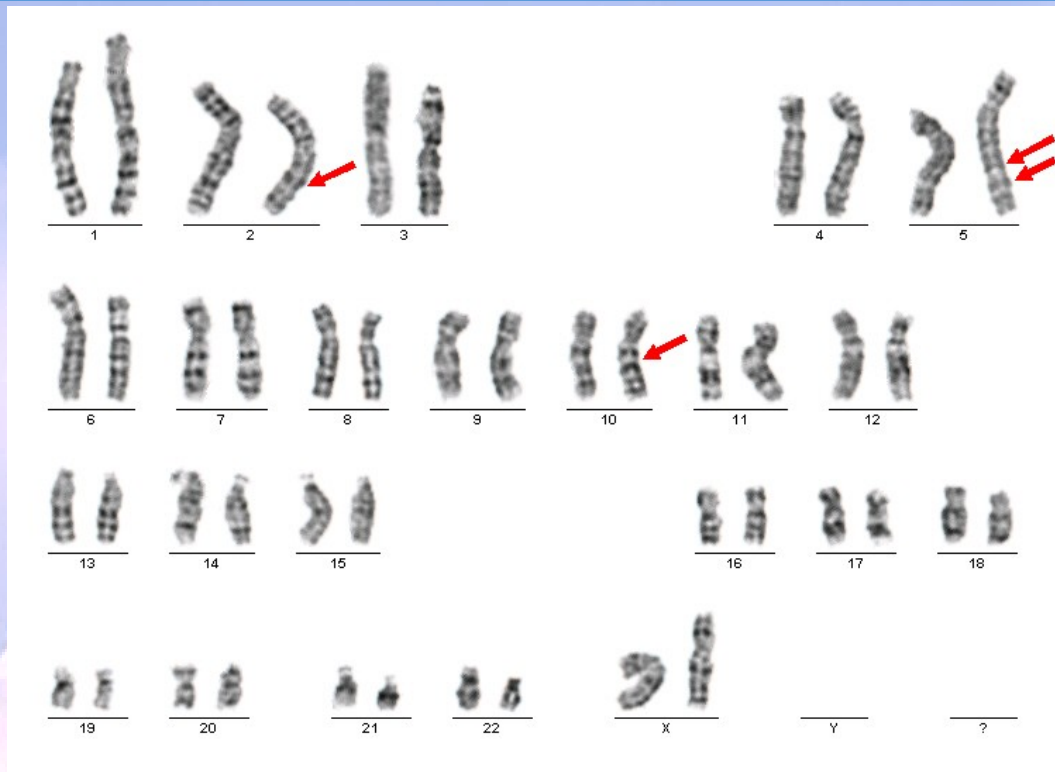
Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

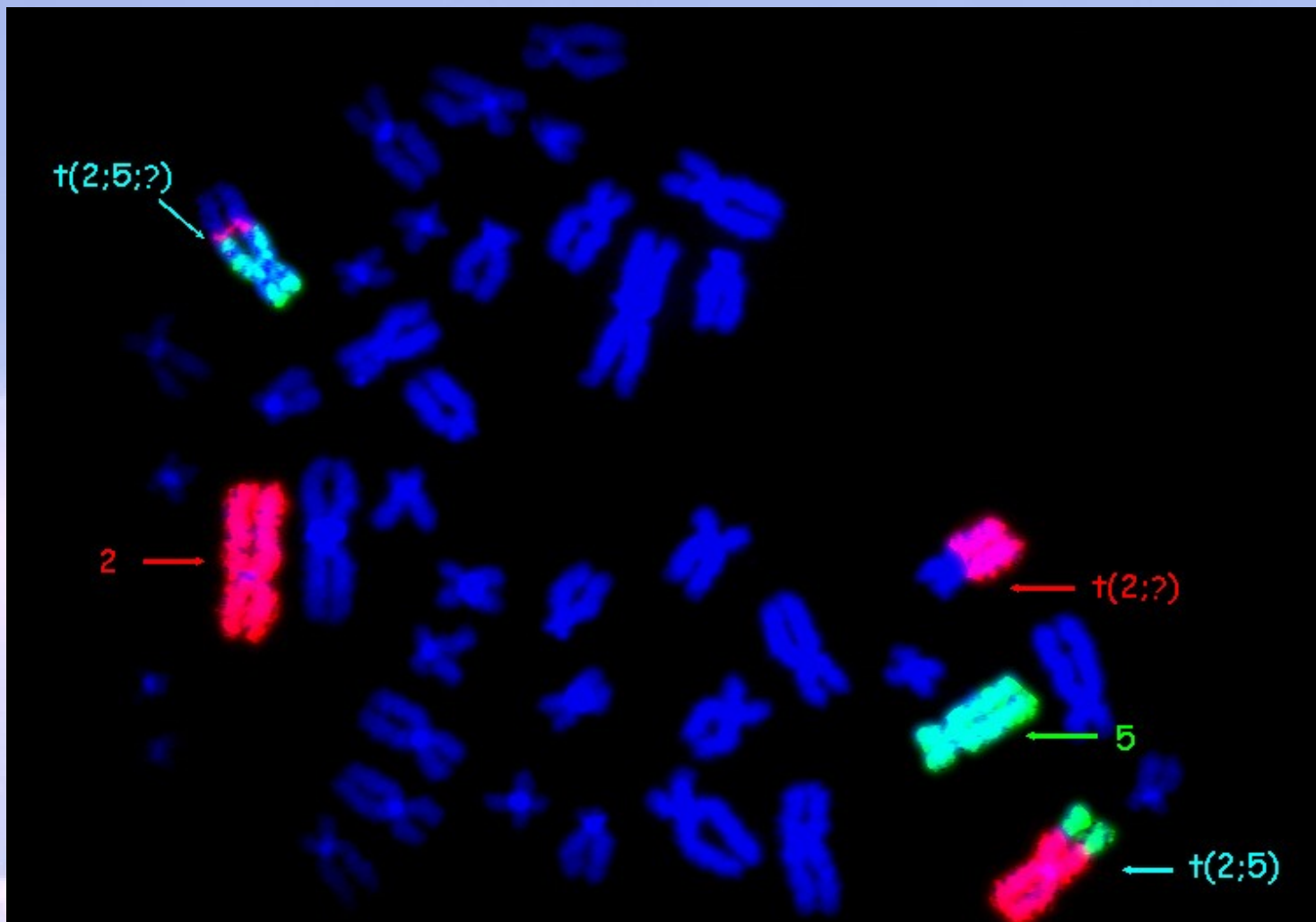
komplexní strukturní přestavby

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

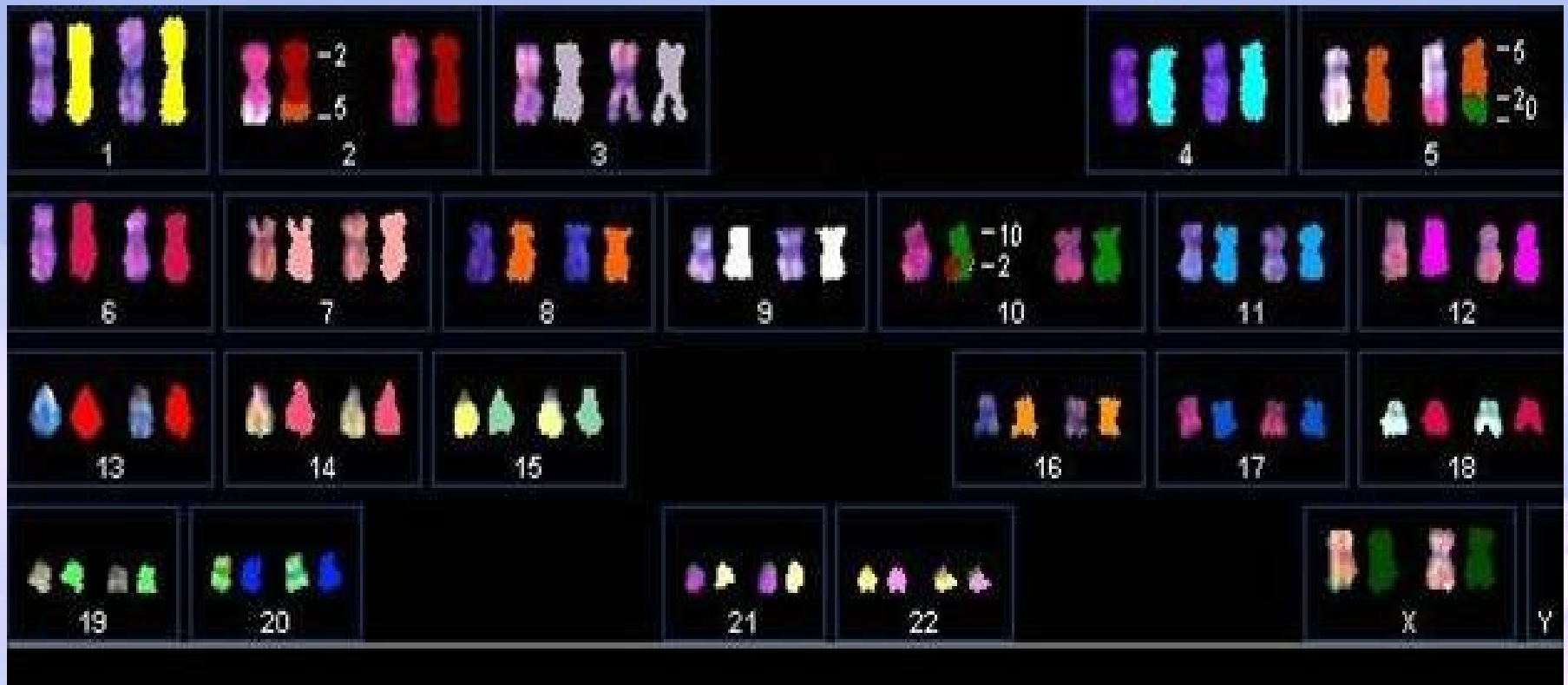


Diskrétní stigmatizace, těžká PMR,
neprospívání

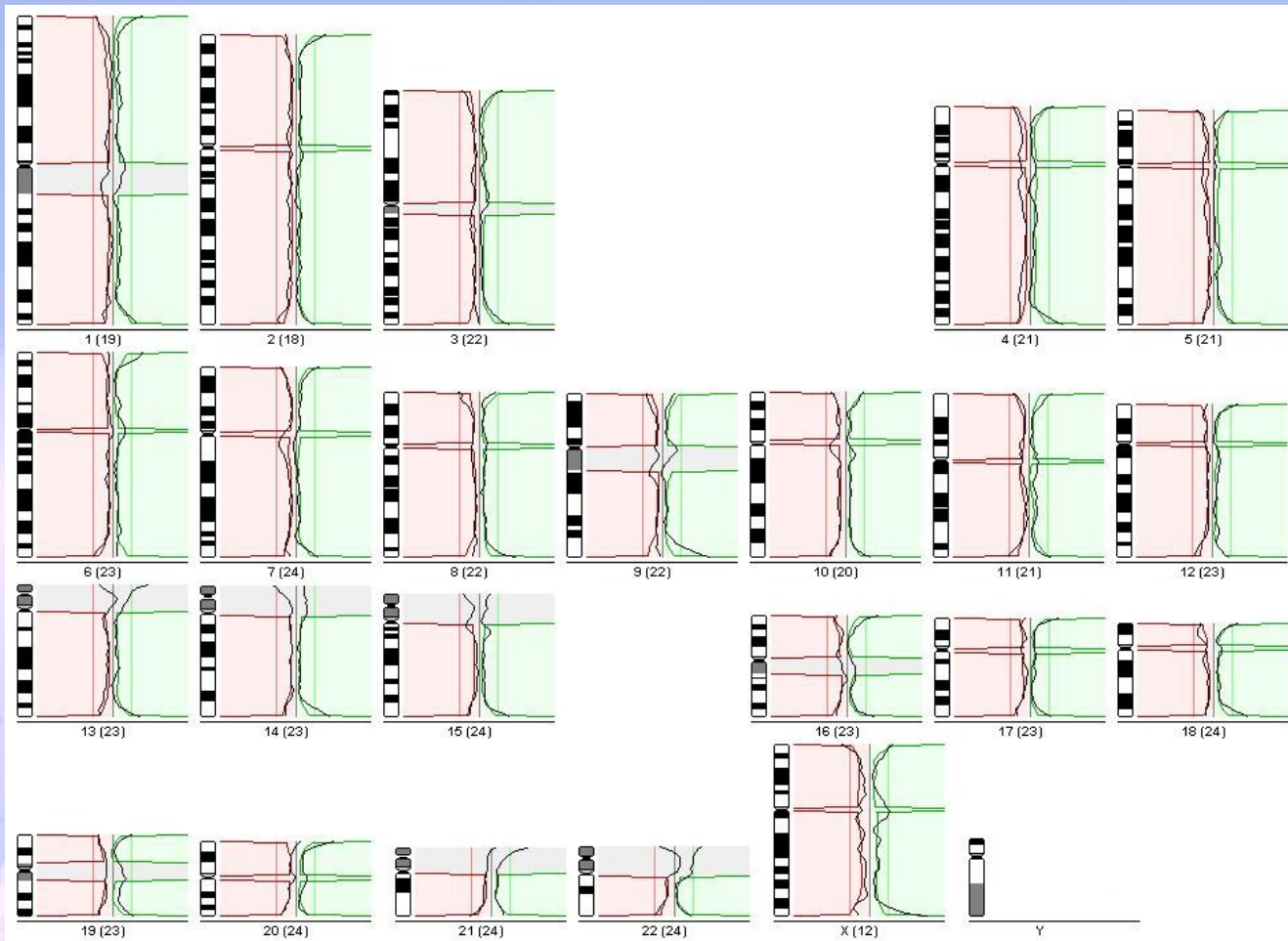
FISH: WCP 2, 5



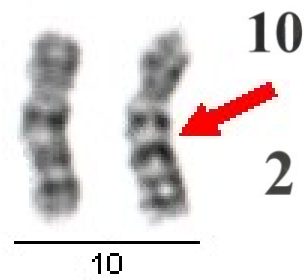
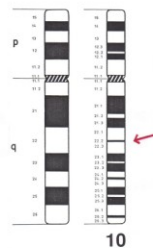
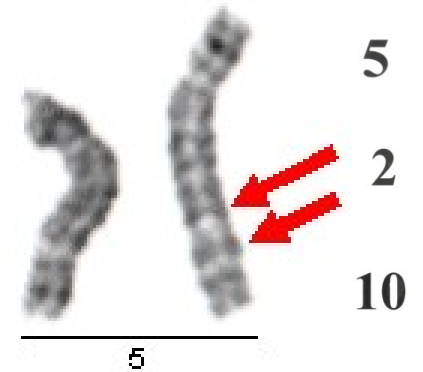
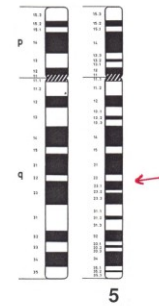
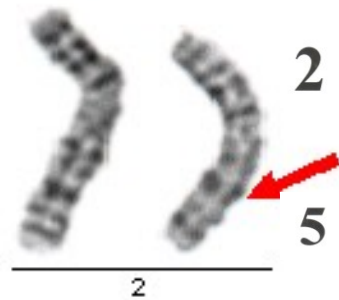
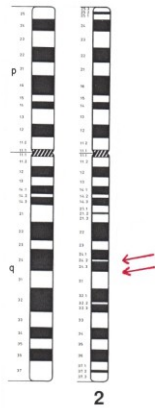
SKY: t(2;5),t(2;5;10),t(2;10)



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)

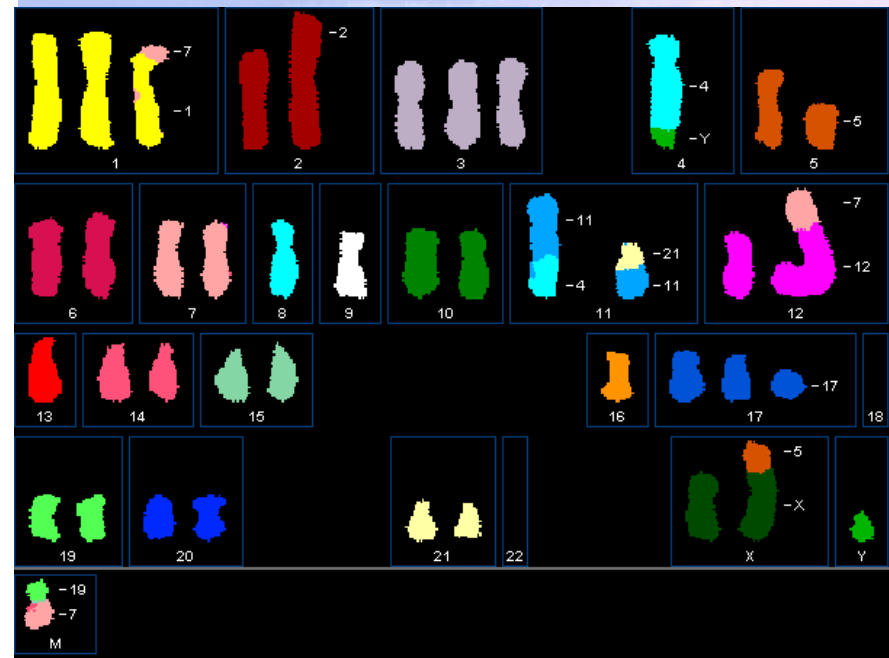
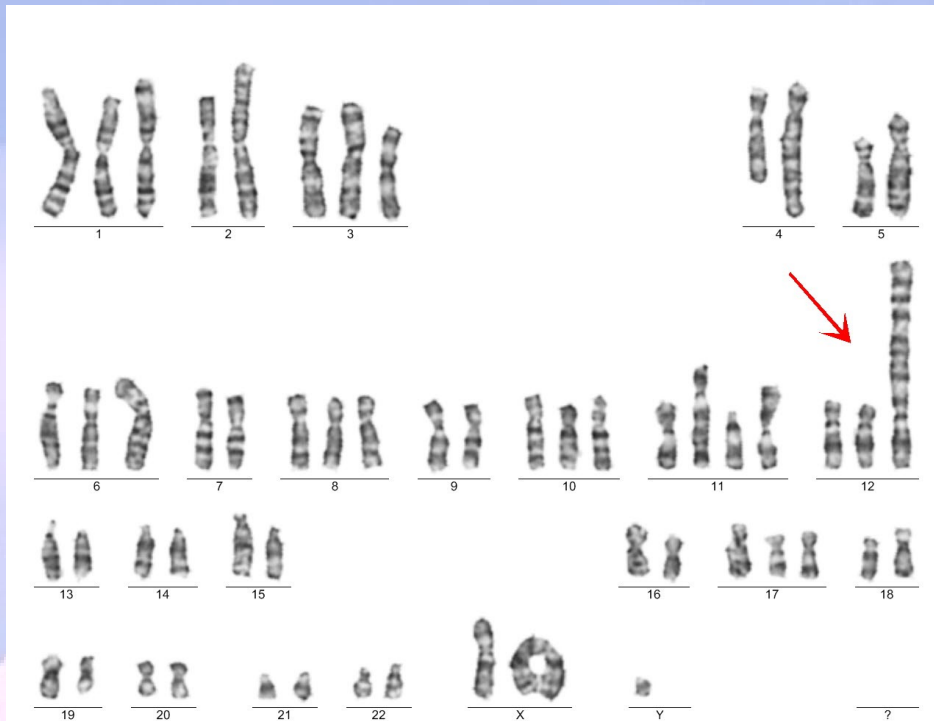
46,XX,der(2)t(2;5),der(5)t(2;5;10),der(10)t(2;10)de novo
suspektně balancovaná translokace

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



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.)

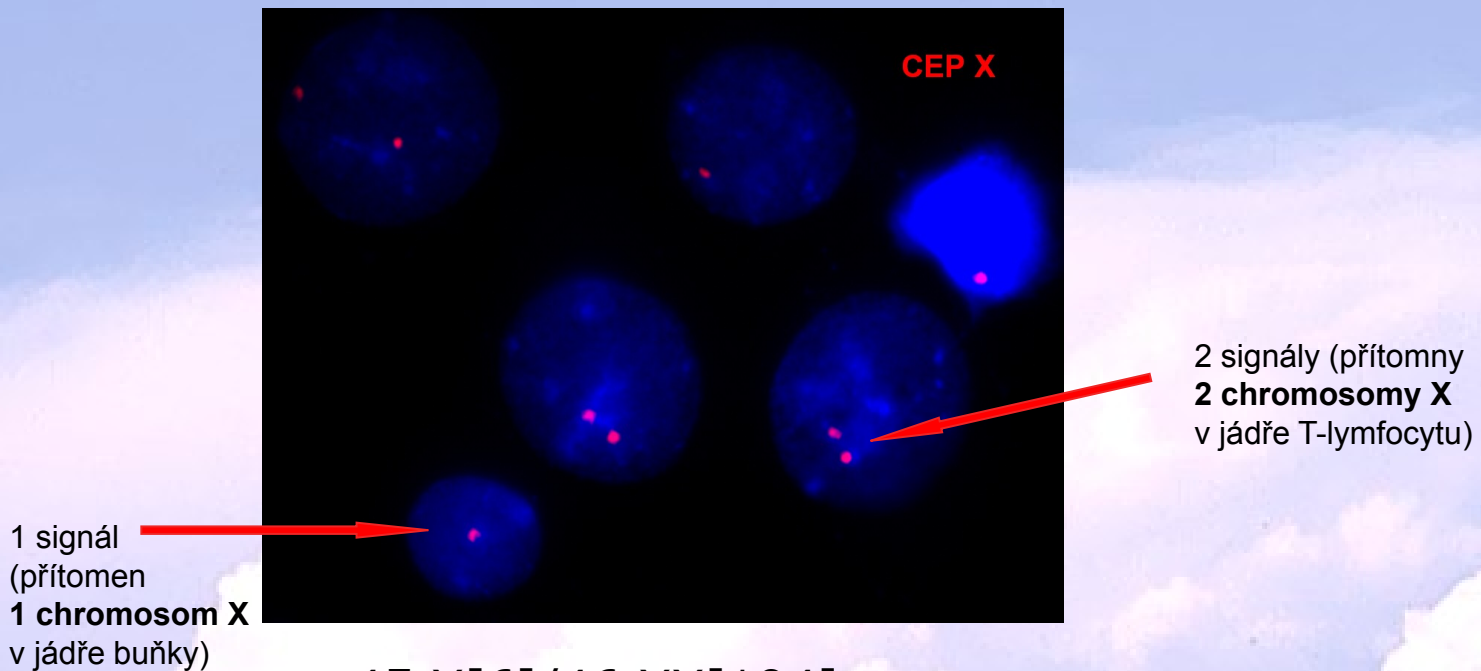
VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) MOZAICISMUS - gonosomy



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

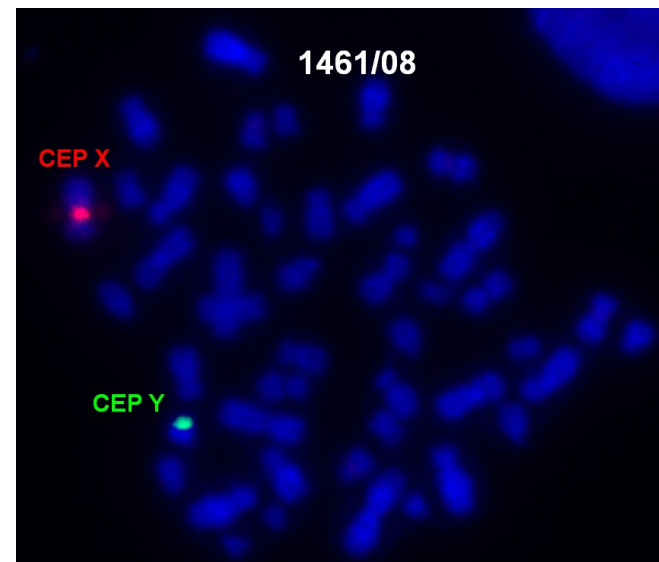
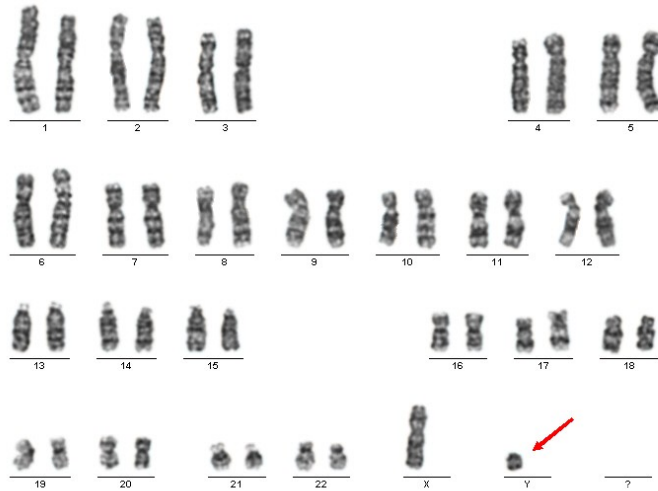


45,X[6]/46,XX[194]

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

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

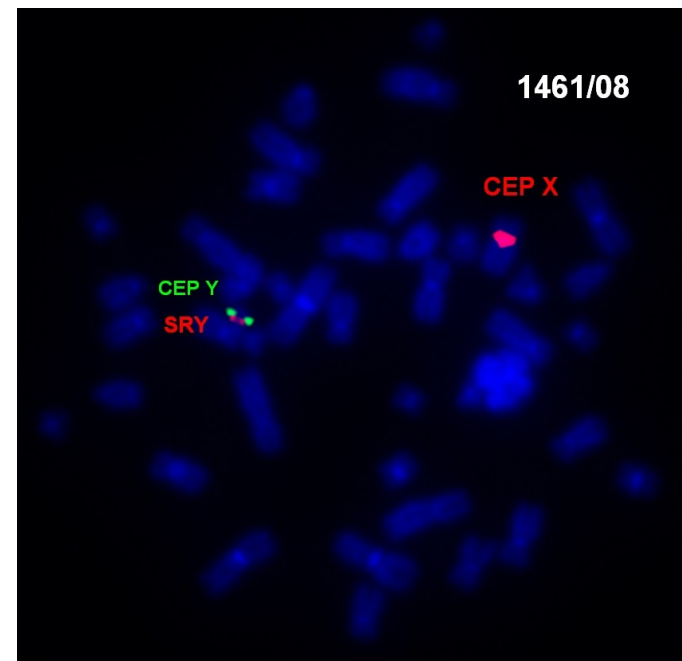
MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



buněčná linie 46,X,r(Y)?

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

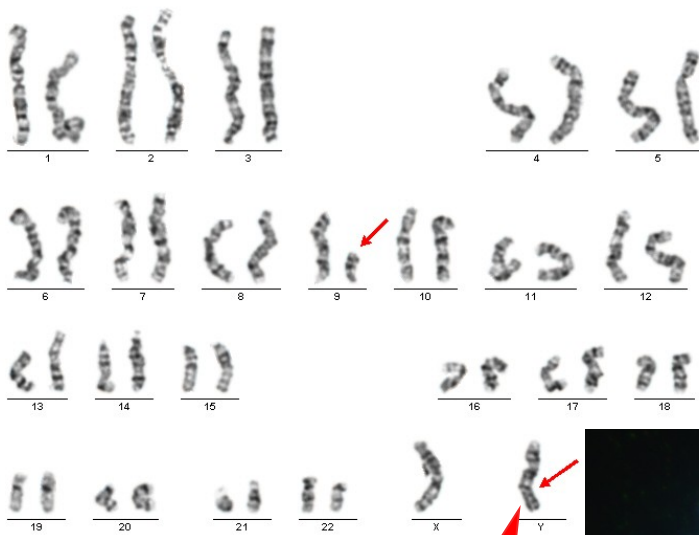
MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



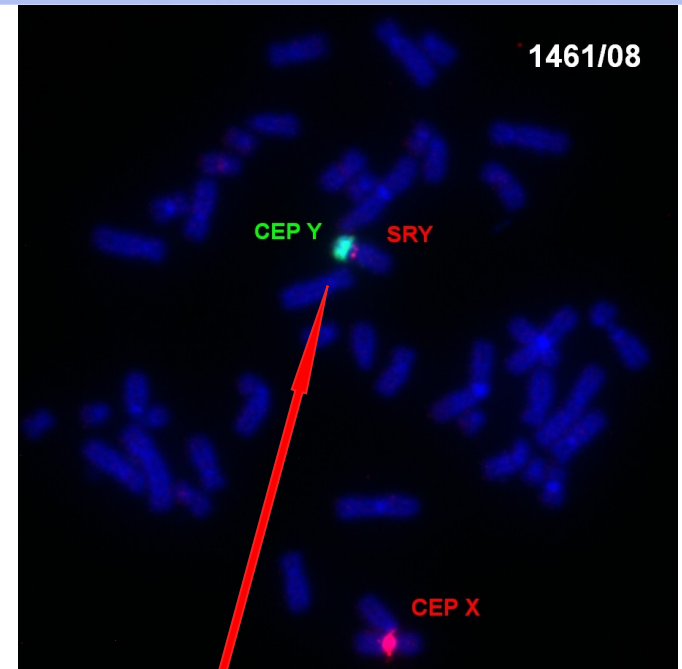
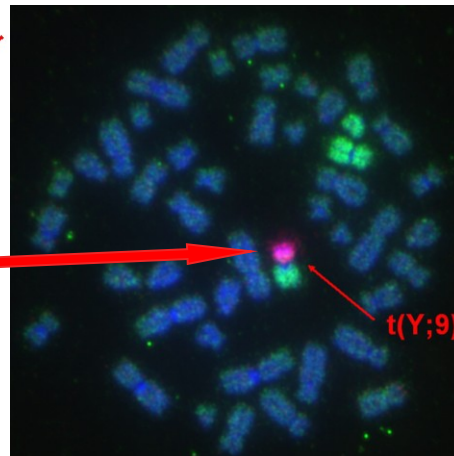
buněčná linie 46,X,mar(Y)?

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



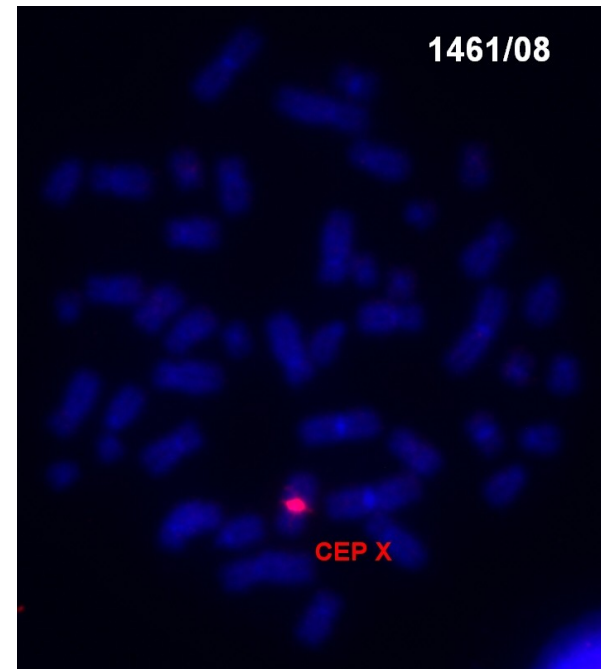
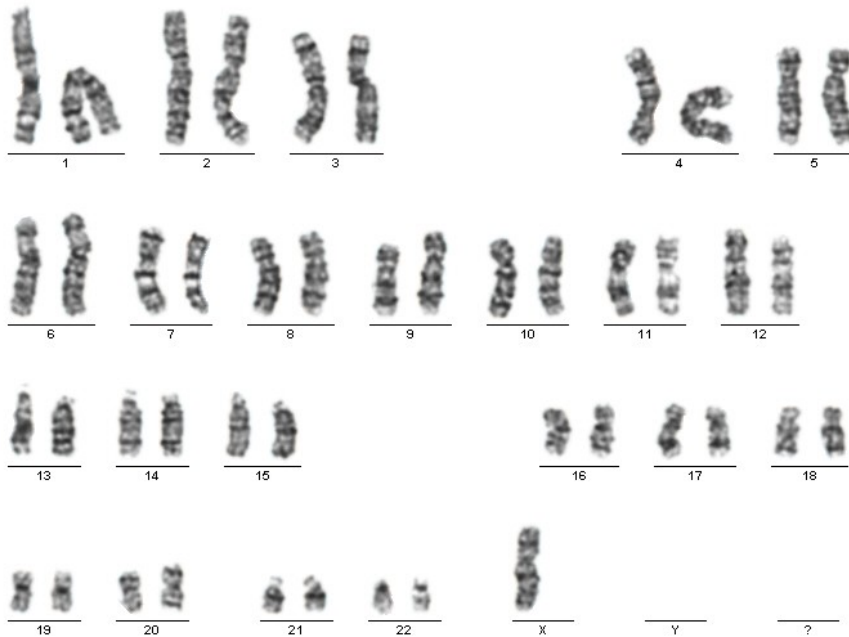
buněčná linie 46,X,t(Y;9)(p11?;q12?)



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)
 - v mitózách získaných z T-lymfocytů periferní krve lze pozorovat ztrátu jednoho chromosomu X u žen a chromosomu Y v buňkách u mužů v souvislosti s věkem



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)



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



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

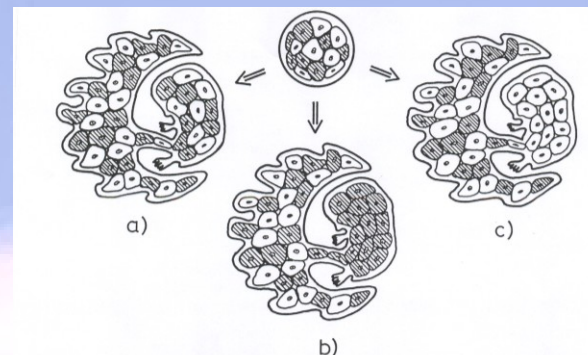
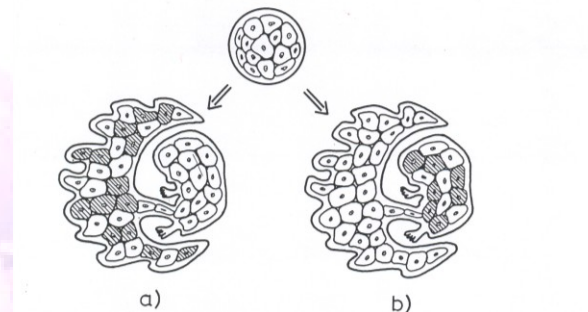


Fig. 1. Diagrammatic representation of the development of a mosaic morula resulting in a conceptus with chromosomal mosaicism involving both the chorion and the embryo; b, c conceptus with a nonmosaic embryo and mosaicism confined to the chorion



ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (u onkologických pacientů) MOZAICISMUS

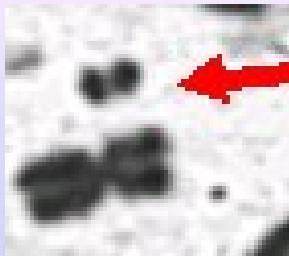
- nádorové buňky tvoří klony
- **klon - skupina geneticky identických buněk**
(v organismu pacienta se může nacházet více buněčných klonů)
(stanovení karyotypu maligních klonů)

ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE

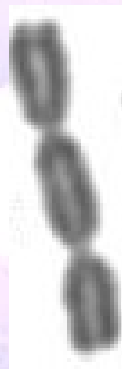
(vliv mutagenních faktorů prostředí)

- 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



chrB



dic



děkuji za pozornost

