

Cystická fibróza

Cystická fibróza

I/ Klinické podezření

1. Chronické sinobronchiální onemocnění

- recidivující pneumonie a infekty dolních cest dýchacích (DCD),
- perzistující kolonizace
- infekce DCD patogeny typickými pro CF:
Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia,
- chronický produktivní kašel, pískoty,
- Paličkovité prsty
- typické radiologické změny na skiagramu hrudníku a/nebo HRCT plic,
- přítomnost obstrukční ventilační poruchy jinak nevysvětlitelné.

2. Gastrointestinální onemocnění

- Postižení pankreatu (zevní insuficience pankreatu, recidivující pankreatitidy),
- postižení střeva (mekoniový ileus, syndrom distální střevní obstrukce, prolaps rekta),
- chronické hepatobiliární onemocnění.

3. Malnutrice

- hubnutí,
- porucha růstu
- steatorrhea,
- avitaminóza vitaminů rozpustných v tucích
- osteopenie,
- osteoporóza
- hypoproteinemické otoky.

4. Obstruktivní azoospermie.

5. Syndrom ztráty solí

- akutní ztráta solí s hypovolemickým šokem
- chronická metabolická alkalóza.

Cystická fibróza

II/Laboratorní vyšetření

– jsou nedílnou součástí diagnostiky CF.

V současné době jsou používány metody:

1. Potní test – stimulujeme pocení pilokarpinovou iontoforézou a v potu vyšetřujeme koncentraci chloridů.

Normální koncentrace chloridů v potu je 10–30 mmol/l,

Hraniční hodnoty jsou 30–60 mmol/l.

Při výsledku nad 60 mmol/l je vyšetření pozitivní.

2. Molekulárně genetické vyšetření

Vyšetření je pozitivní při nálezů mutace obou alel genu CFTR.

Geneticky by měli být vyšetřeni i rodiče, sourozenci a pokrevní příbuzní CF pacientů.

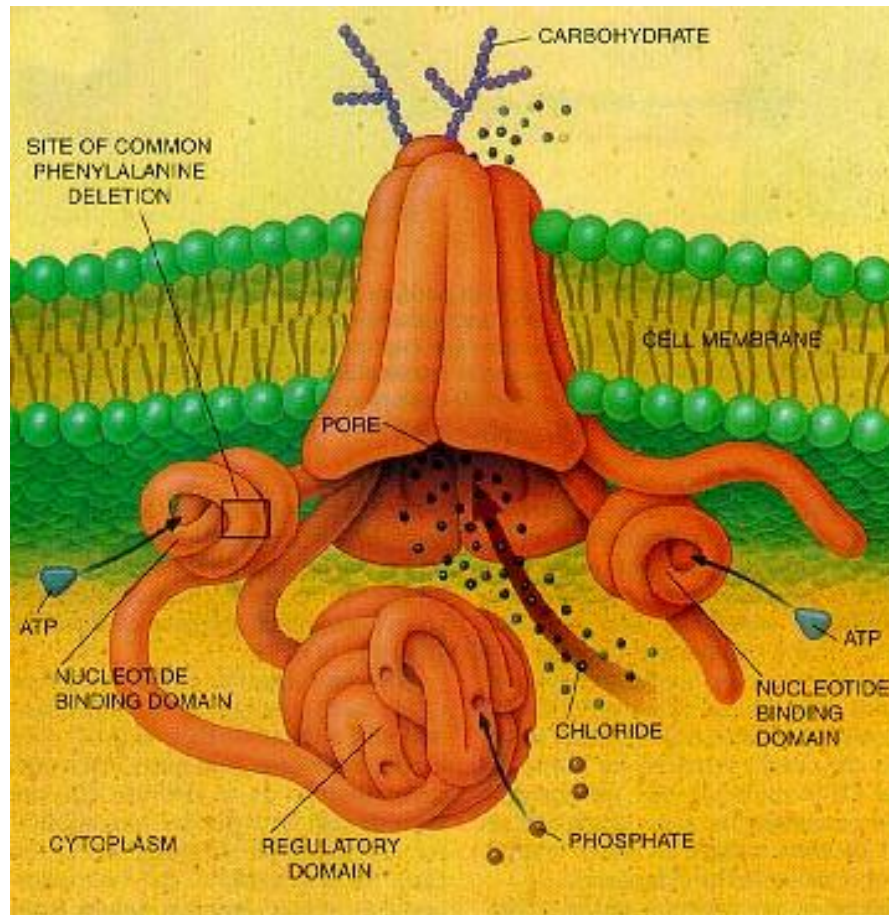
Genetické vyšetření můžeme použít i v rámci prenatální a preimplantační diagnostiky.

Cystická fibróza

Molekulární podstata choroby

Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator CFTR

chloridový kanál
regulující transport iontů přes buněčnou membránu



lokalizovaný v apikální membráně epitelálních buněk

Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator CFTR

Strukturální nebo funkční porucha CFTR způsobuje alteraci transportů solí přes buněčnou membránu dvěma možnými způsoby:

1) zvýšenou absorpcí sodíku, který s sebou táhne do buněk vodu a dochází k poklesu množství tekutiny v hlenu, mukostáze a poruše mukociliární clearance,

2) defektem transportu chloridových iontů, jejichž koncentrace v hlenu vzrůstá, hlen přestává být hypotonický, a proto nedochází k aktivaci antimikrobiálních peptidů – defenzinů.

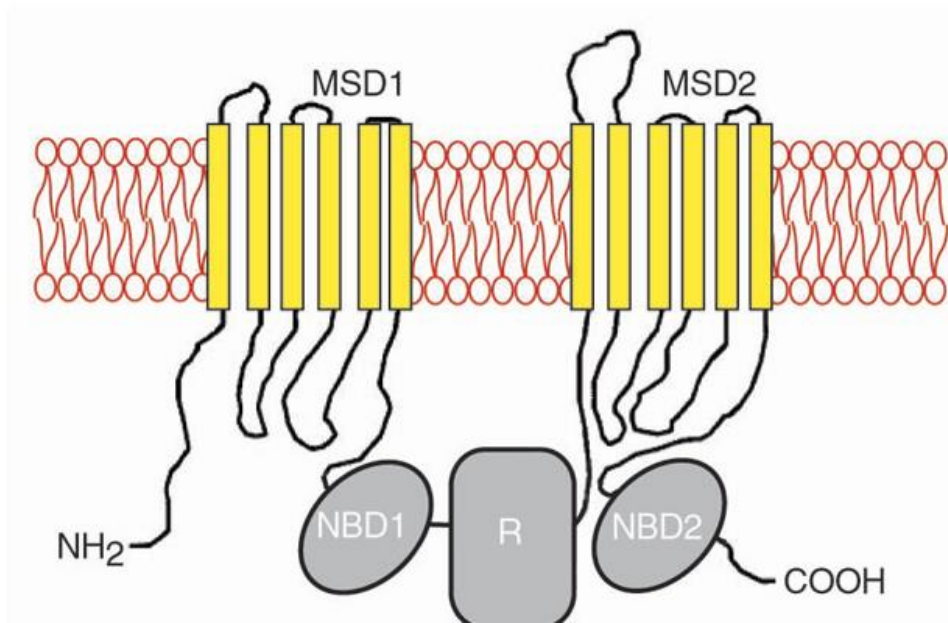
Tento proces vede k poškození plicních obranných mechanismů a rozvoji perzistující infekce a zánětu.

Defektní CFTR mimo toho dysreguluje cytokinovou síť a alteruje sekreční funkci podslizničních žlázových buněk a tím také mění viskozitu a vlastnosti hlenu.

Protizánětlivá aktivita je neadekvátní díky nedostatečné produkci protizánětlivých cytokinů a snížené činnosti antiproteáz a antioxidačního systému.

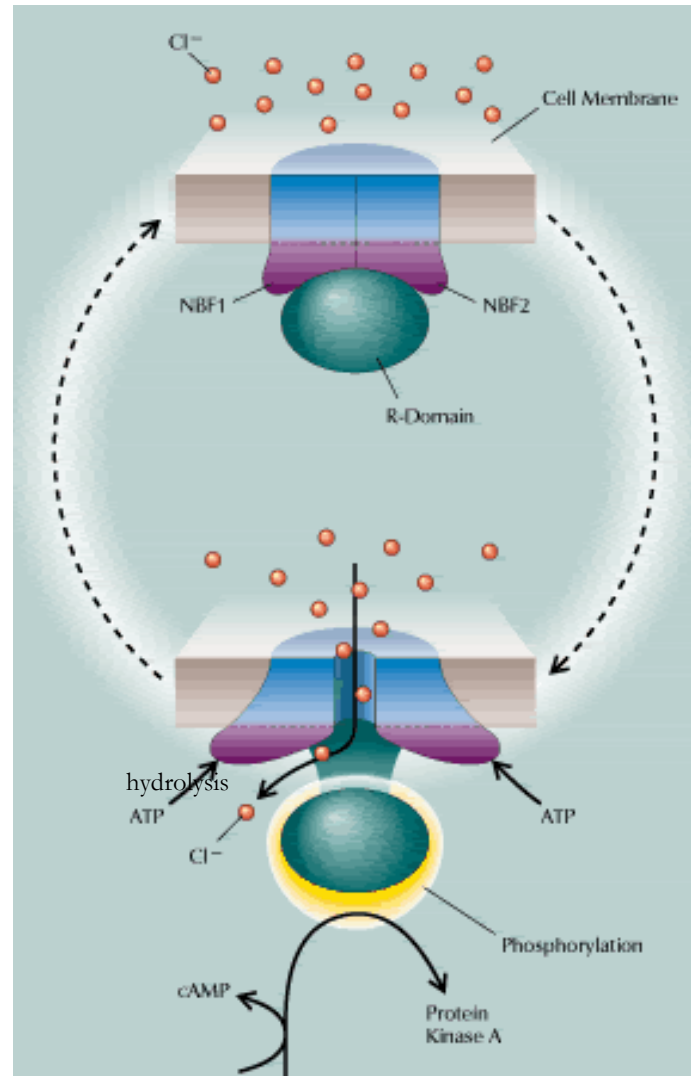
Zánět je u CF primárně způsoben defektním CFTR a infekce přistupuje až sekundárně a celý proces tkáňového poškození stupňuje a urychluje.

Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator CFTR



- Tvořen 5ti doménami:
 - 2 membrane spanning domains
 - 2 nucleotide binding domains
 - 1 regulatory domain

Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator CFTR



klidové stádium

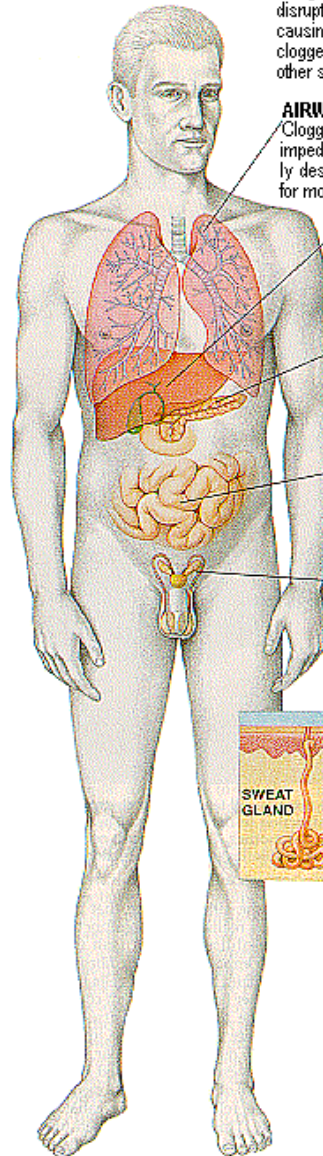
aktivní stádium

Vyžaduje:

- cyclic AMP
- protein kinase A
- ATP

Organs Affected by Cystic Fibrosis

The genetic defect underlying cystic fibrosis disrupts the functioning of several organs by causing ducts or other tubes to become clogged, usually by thick, sticky mucus or other secretions.



AIRWAYS

Clogging and infection of bronchial passages impede breathing. The infections progressively destroy the lungs. Lung disease accounts for most deaths from cystic fibrosis.

LIVER

Plugging of small bile ducts impedes digestion and disrupts liver function in perhaps 5% of patients.

PANCREAS

Occlusion of ducts prevents the pancreas from delivering critical digestive enzymes to the bowel in 65% of patients. Diabetes can result as well.

SMALL INTESTINE

Obstruction of the gut by thick stool necessitates surgery in about 10% of newborns.

REPRODUCTIVE TRACT

Absence of fine ducts, such as the vas deferens, renders 95% of males infertile. Occasionally, women are made infertile by a dense plug of mucus that blocks sperm from entering the uterus.



SKIN

Malfunctioning of sweat glands causes perspiration to contain excessive salt (NaCl). Measurement of chloride in sweat is a mainstay of diagnosis.

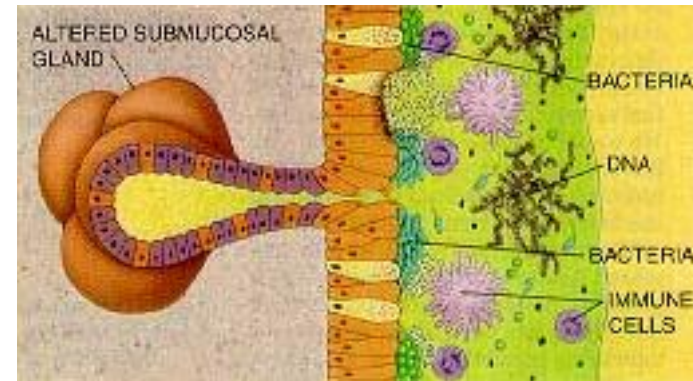
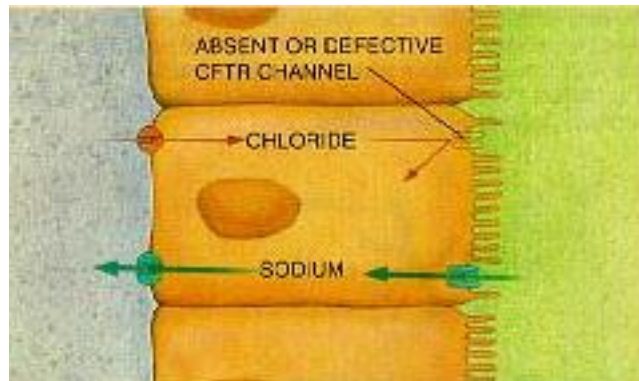
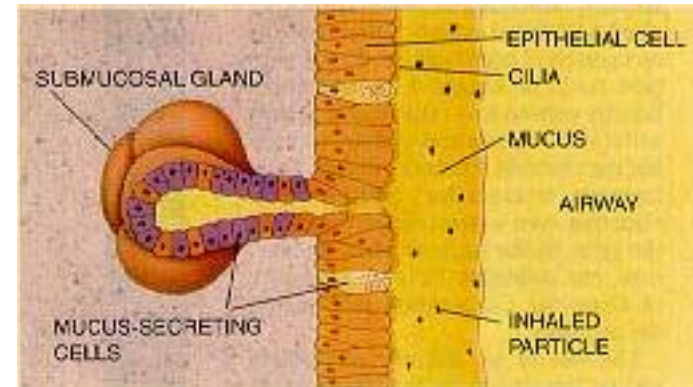
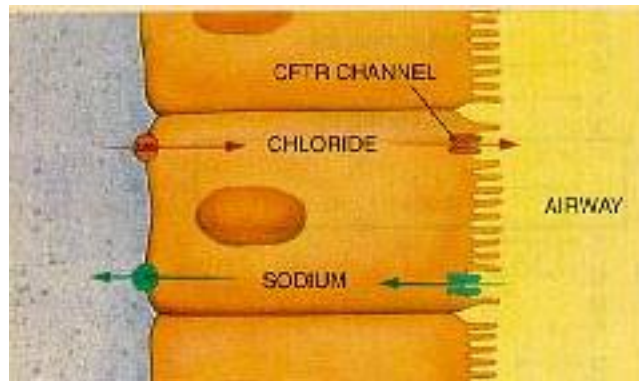
CFTR

exprese ve všech tkáních
(vyjma nervové)



multiorgánové onemocnění

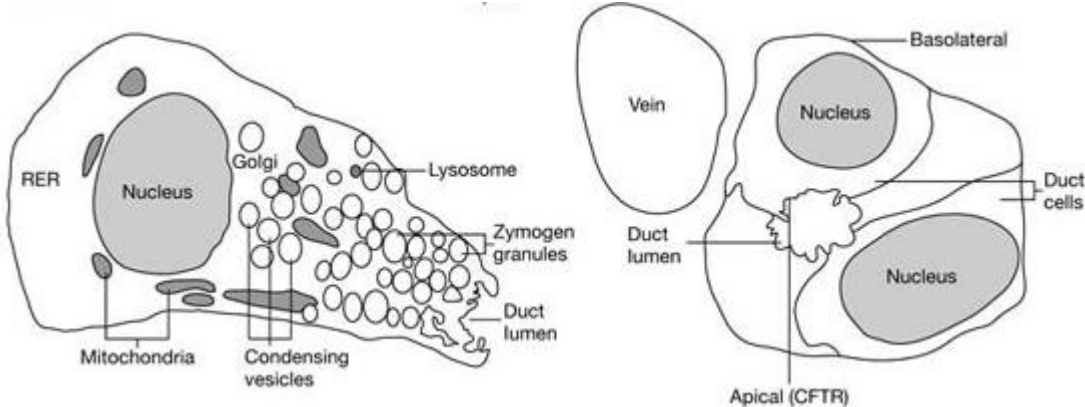
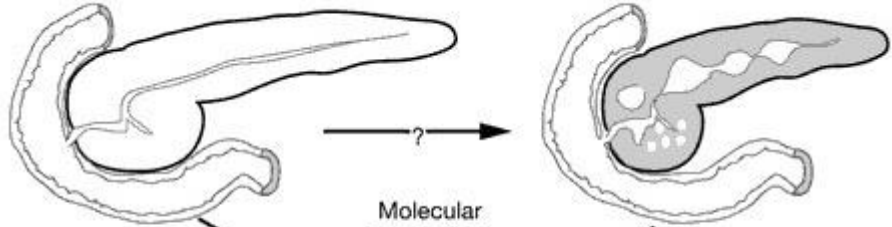
CF plíce



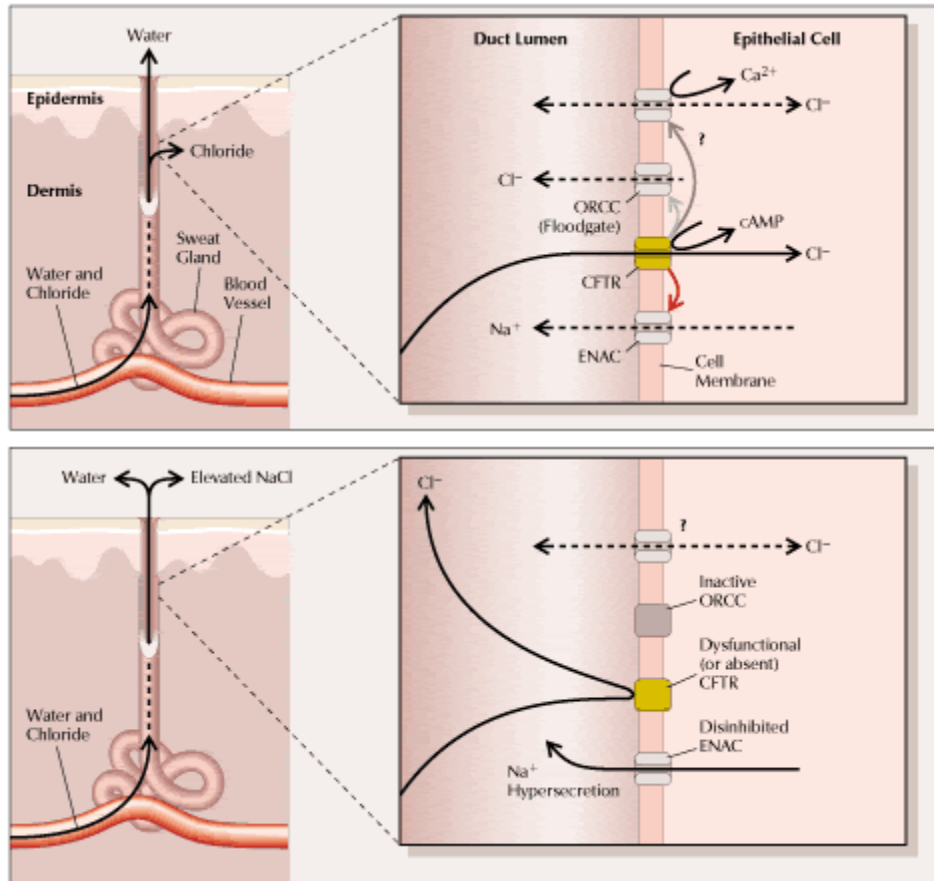
CF pancreas

A Normal pancreas

B Chronic pancreatitis



CF potní žlázy



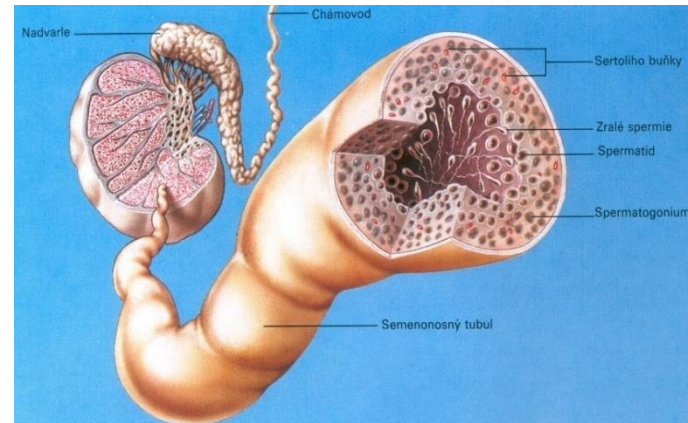
CF reprodukční trakt

Muži

Asi 98 % dospělých CF mužů je infertilních, nikoliv sterilních.

Příčinou je prenatální obstrukce vasis deferentis (CBAVD) se slepým zakončením nadvarlete.

Obstruktivní azoospermie může být zcela izolovaným příznakem



Ženy

U žen se může v děložním hrdle tvořit vazký hlen, který může způsobovat obtíže při oplodnění.

Častá primární nebo sekundární amenorrhea v důsledku poruch výživy a plicních změn

1989

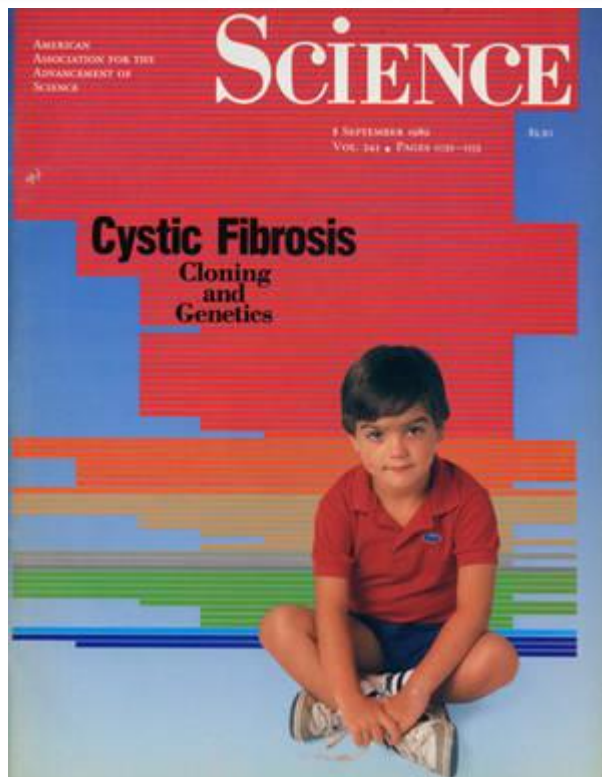
Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) gene
objeven, klonován, lokalizován a sekvenován



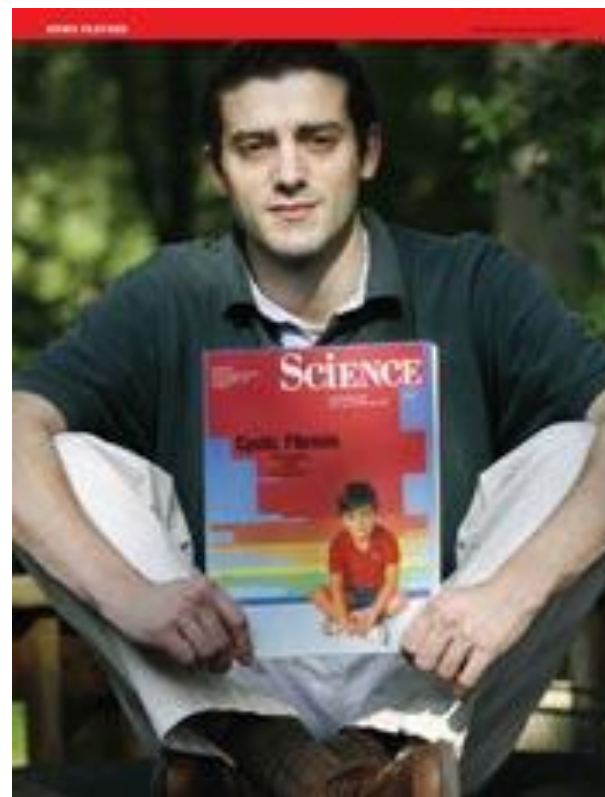
Lap-Chee Tsui,, John Riordan, Francis S. Collins, Johanna Rommens



Lap-Chee Tsui, centre, with Francis Collins and John Riordan, on that special day in 1989



září 1989 článek o klonování CFTR genu
s 4 letým Danny Bessetem, dítětem s CF

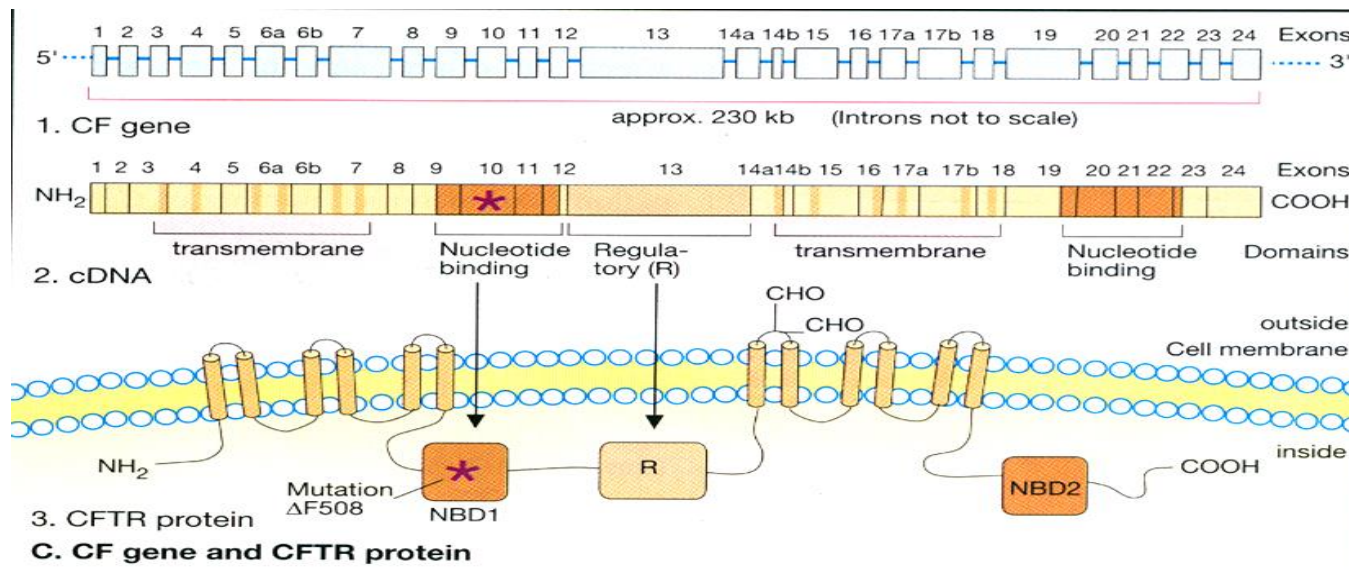


Danny Bessette po 20 letech

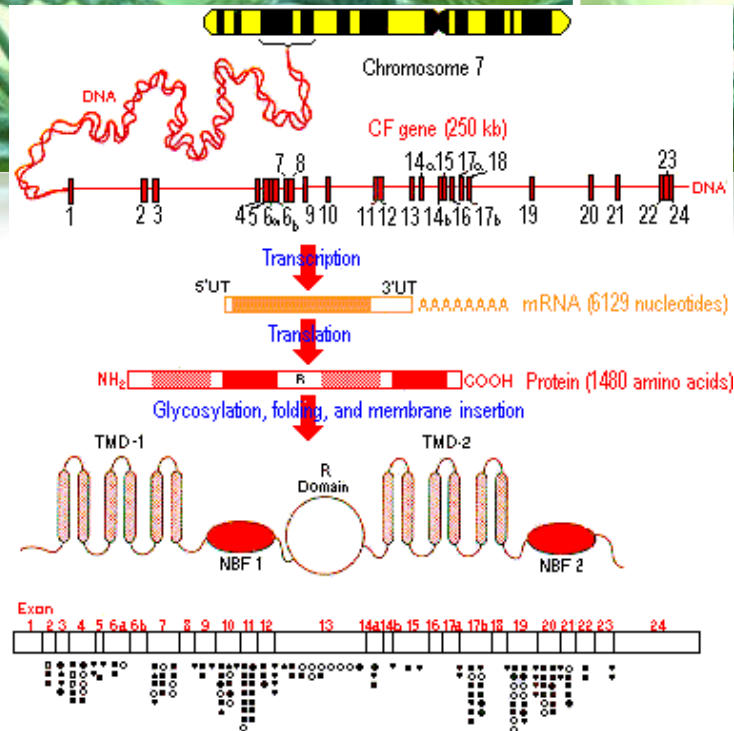
(Photo: Steve Barrett/Science)

CFTR gen

- lokalizován na chromozomu 7 (7q31)
- 250 kb dlouhý
- 27 exonů
- cDNA sekvence dlouhá 6129 bp kóduje 1480 aminokyselin CFTR proteinu

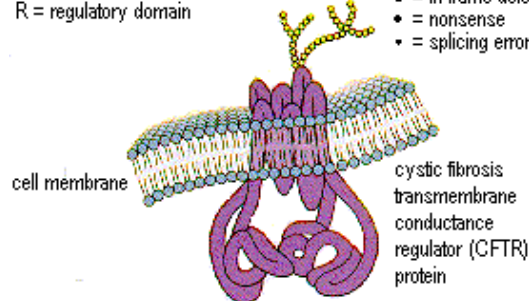


Gen CFTR

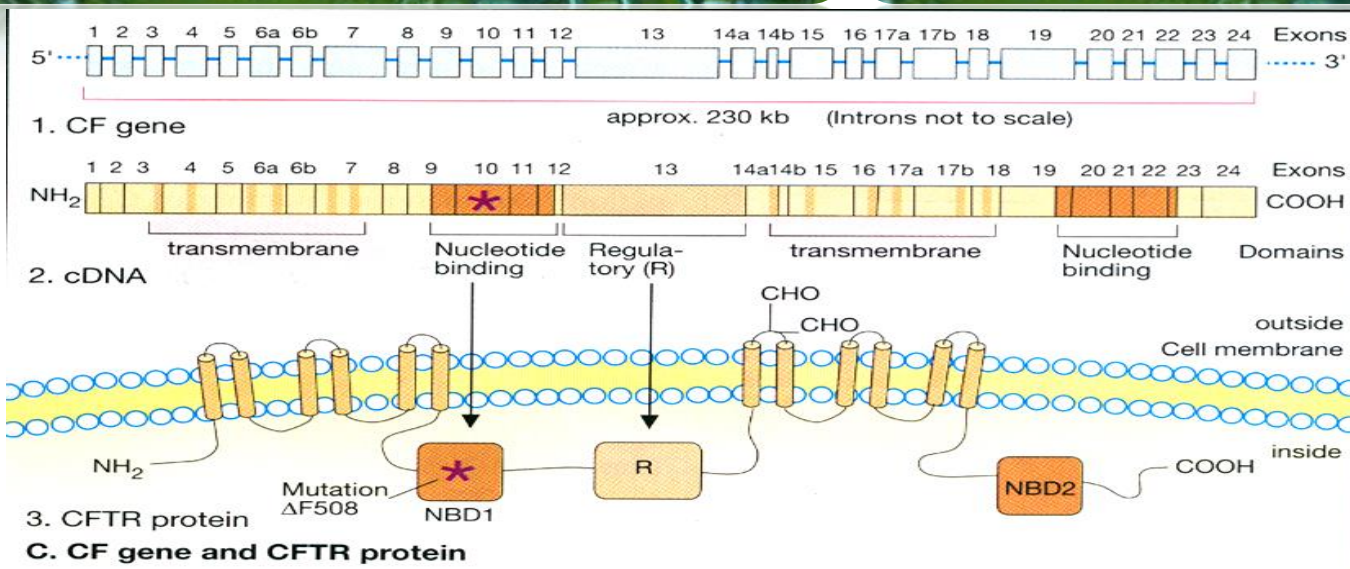


TMD-1, TMD-2 = transmembrane domains
 NBF-1, NBF-2 = nucleotide-binding folds
 R = regulatory domain

mutation types
 • = in-frame deletion ▪ = missense
 • = nonsense ◊ = frame-shift
 • = splicing error



Gen CFTR



- lokalizován na chromozomu 7 (7q31)
- 250 kb dlouhý
- 27 exonů
- cDNA sekvenec dlouhá 6129 bp kóduje 1480 aminokyselin CFTR proteinu

1989

CF mutace F508del



CFTR Sequence:

Nucleotide: ATC ATC **C TT** T GGT GTT

Amino Acid: Ile Ile **Phe** Gly Val

506

508

Deleted in Delta F508

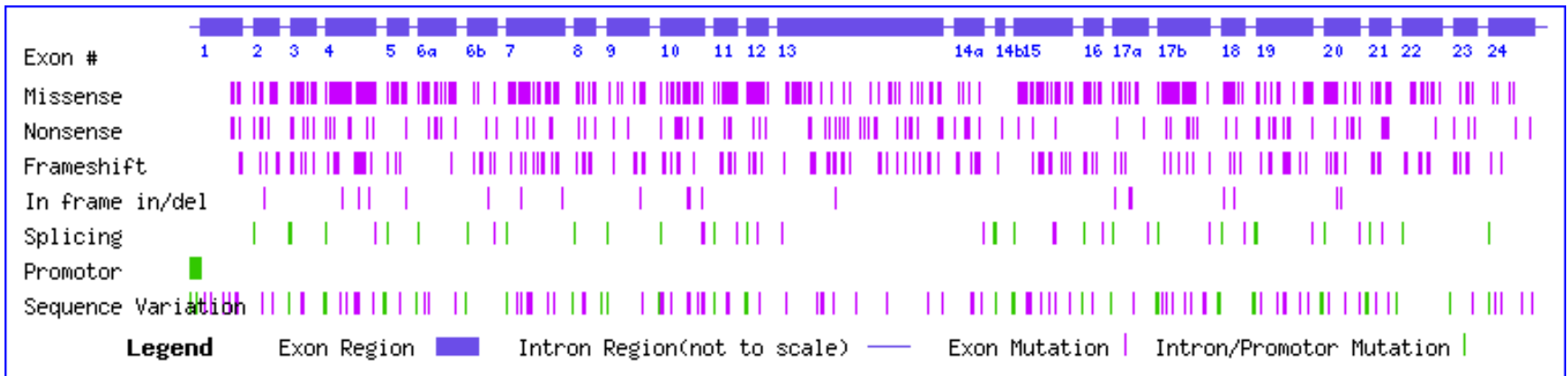
Delta F508 CFTR Sequence:

Nucleotide: ATC ATT GGT GTT

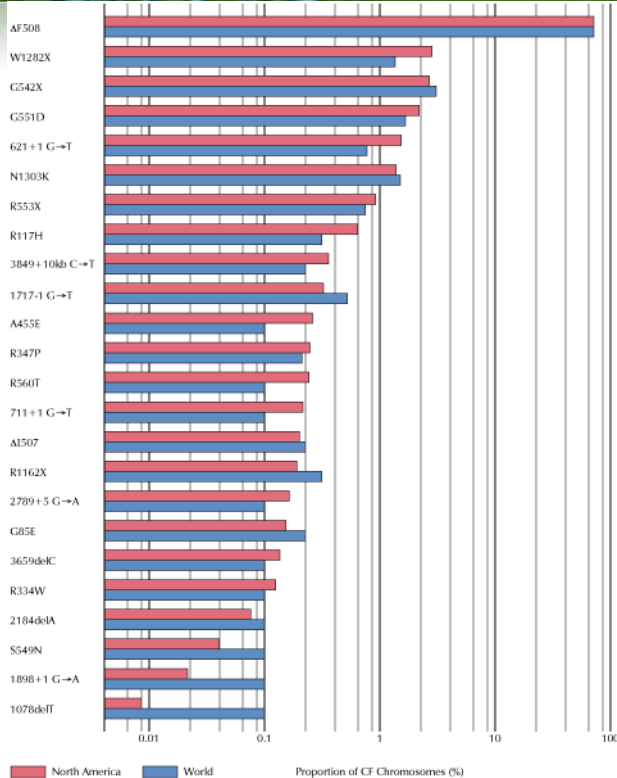
Amino Acid: Ile Ile Gly Val

506

CFTR gen **1932** mutací Cystic Fibrosis Mutation Database.



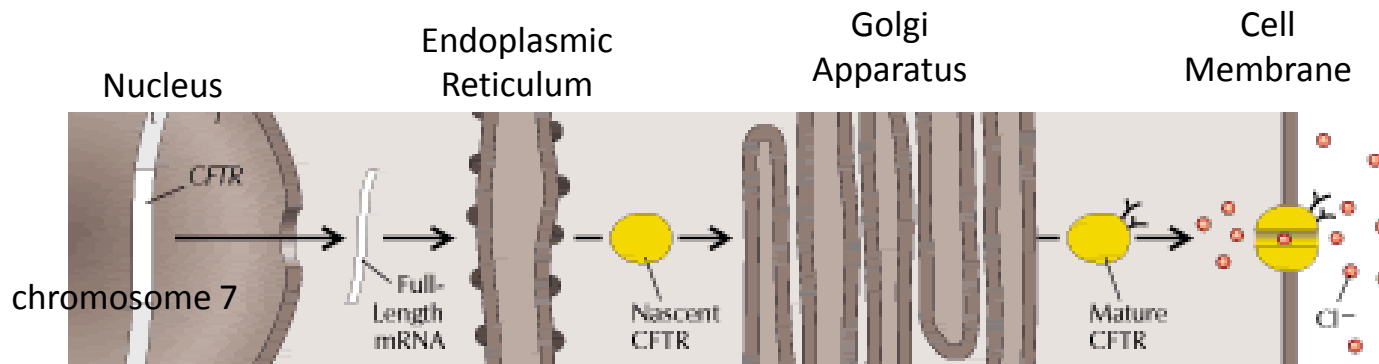
CFTR gen **2000** mutací Cystic Fibrosis Mutation Database.



- **většina z nich je raritní, „privátní“**
nebo jejich vztah k CF nebyl prokázán
- **pouze 7 mutací vyskytuje na více než 1% CF**
patologických alel
- **je pozorováno široké rozpětí ve frekvenci**
jednotlivých mutací u různých populací
- **nejčastější mutatace F508del je detekována**
u cca 66% CF pacientů

Třídy mutací CFTR

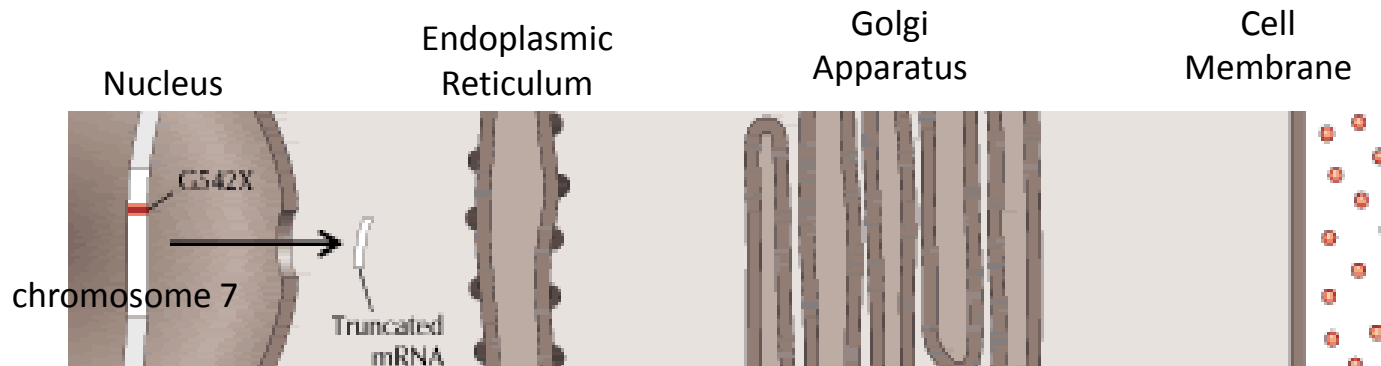
Normální CFTR



- CFTR gen - přepsán (transkribce) do messenger RNA
- mRNA CFTR - přeložena (translace) do proteinu
- CFTR protein – postranslační modifikace (glycosylace)
- CFTR maturovaný protein – umístěn v buněčné membráně

Třídy mutací CFTR

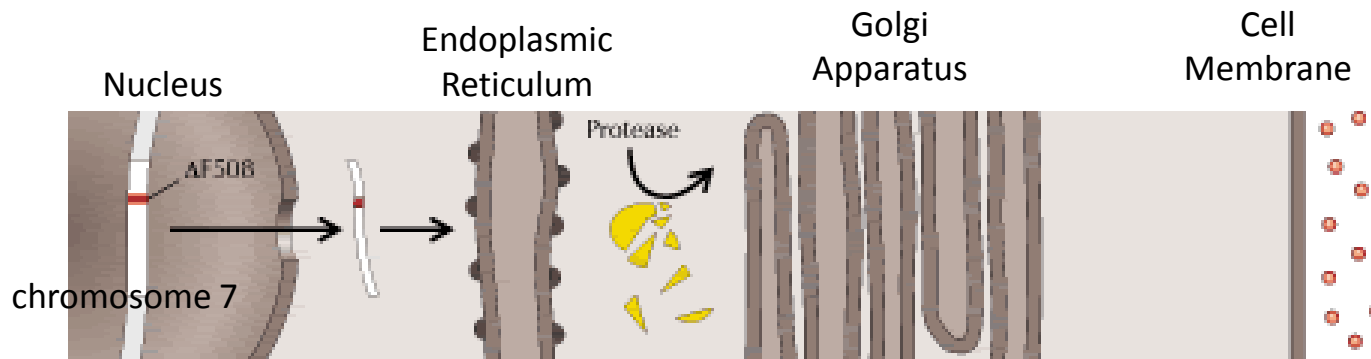
CF mutace: třída I



- CFTR gen – stop kodón
 ↙
 ↘ zkrácená , nefunkční messenger RNA

Třídy mutací CFTR

CF mutace: třída II

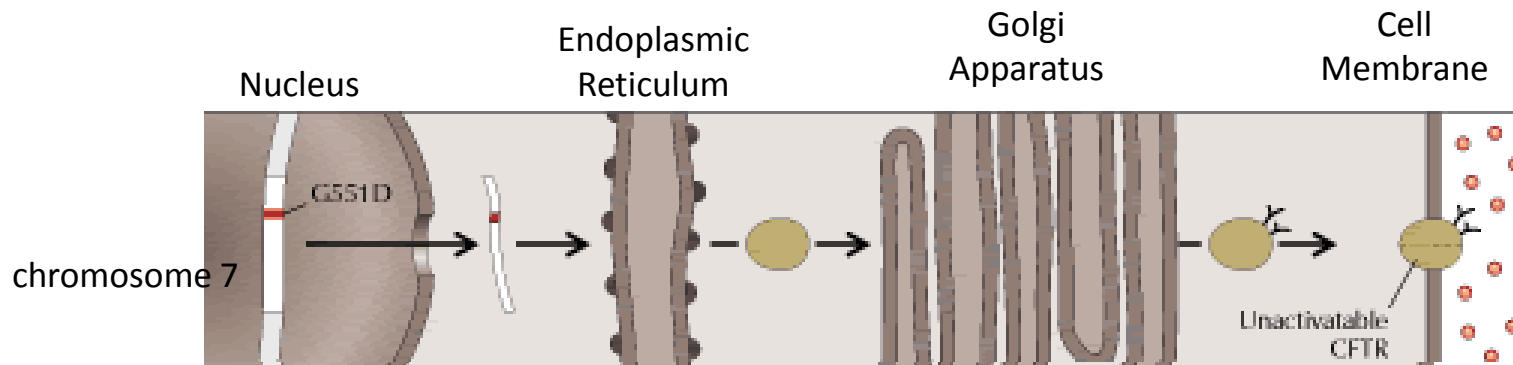


- CFTR gen - přepsán (transkribce) do messenger RNA
- mRNA CFTR - přeložena (translace) do proteinu

mutace F508del dává CFTR nesprávný tvar
↙ degradován proteolýzou

Třídy mutací CFTR

CF mutace: třída III

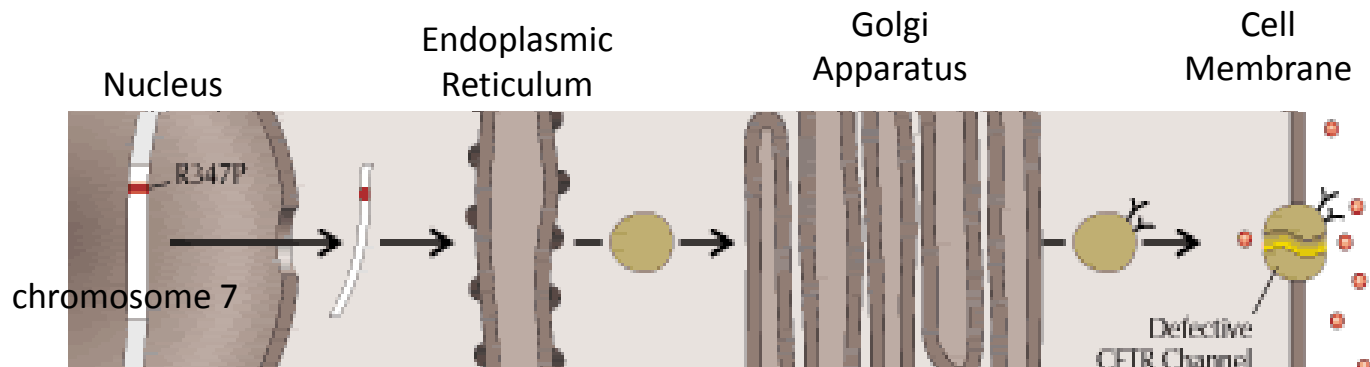


- CFTR gen - přepsán (transkribce) do messenger RNA
- mRNA CFTR - přeložena (translace) do proteinu
- CFTR protein – postranlační modifikace (glycosylace)
- CFTR maturovaný protein – umístěn v buněčné membráně

mutace G551D – nefukční NBD1 doména

Třídy mutací CFTR

CF mutace: třída IV

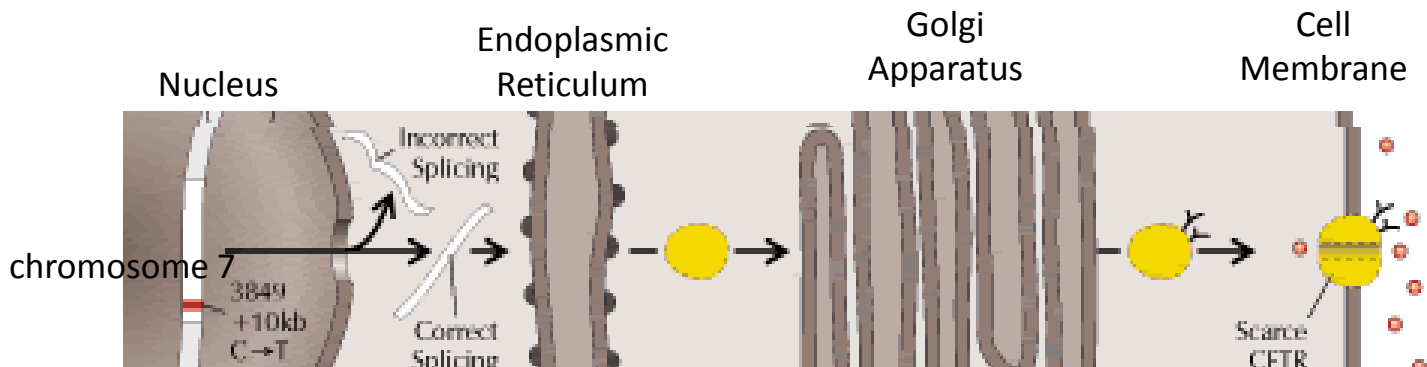


- CFTR gen - přepsán (transkribce) do messenger RNA
- mRNA CFTR - přeložena (translace) do proteinu
- CFTR protein – postranslační modifikace (glycosylace)
- CFTR maturovaný protein – umístěn v buněčné membráně
-

mutace R347P – snižuje chloridovou konduktanci

Třídy mutací CFTR

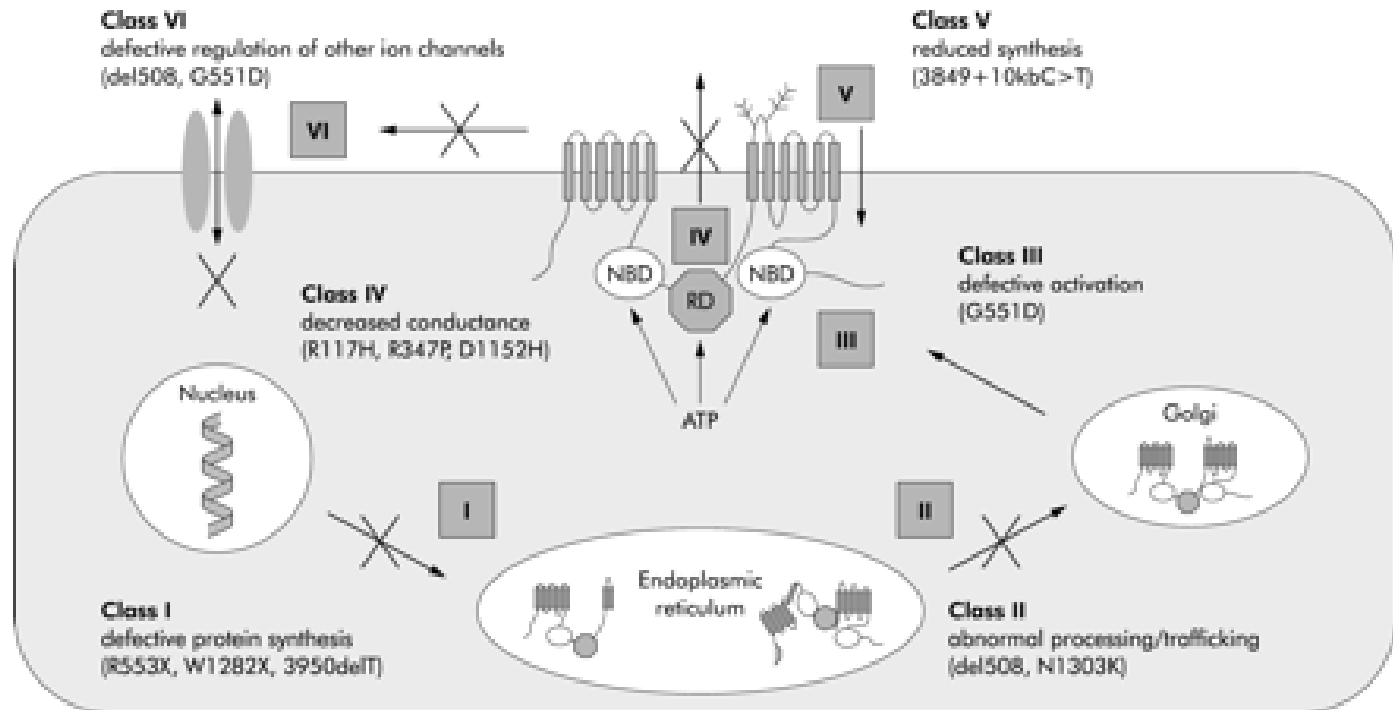
CF mutace: třída V



- CFTR gen – sestřihová mutace
 - ↙ část mRNAs defektní
 - ↓
 - snížené množství CFTR proteinu

mutace 3849+10kb sestřihová (splicing) mutace

Třídy mutací CFTR



Sekvenční varianty CFTR

196 sekvenčních variací v genu CFTR

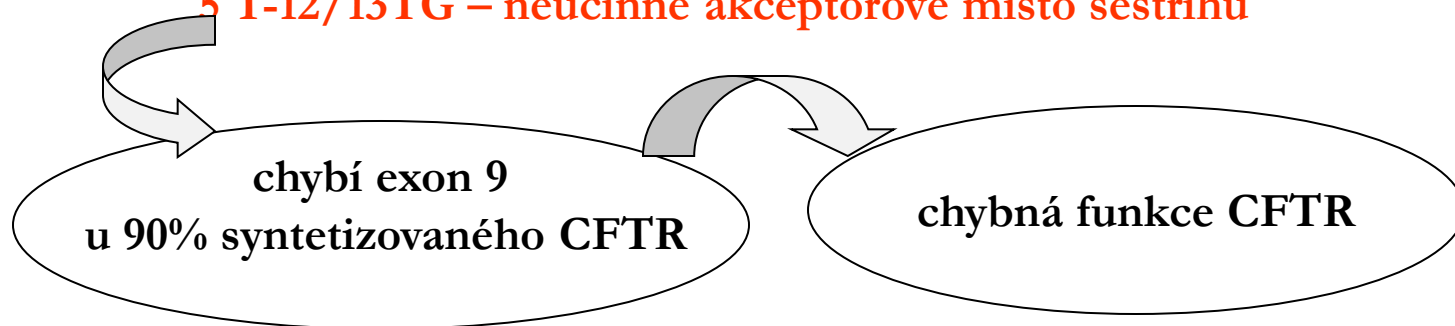
PolyT-TG alelické varianty (Tn) v intronu 8 genu CFTR

konfigurace traktu:

9 T- 10/11TG – účinné akceptorové místo sestřihu

7 T- 10/11TG – účinné akceptorové místo sestřihu

5 T-12/13TG – neúčinné akceptorové místo sestřihu



5T alela považována za mutaci

asociovanou s širokým spektrem příznaků

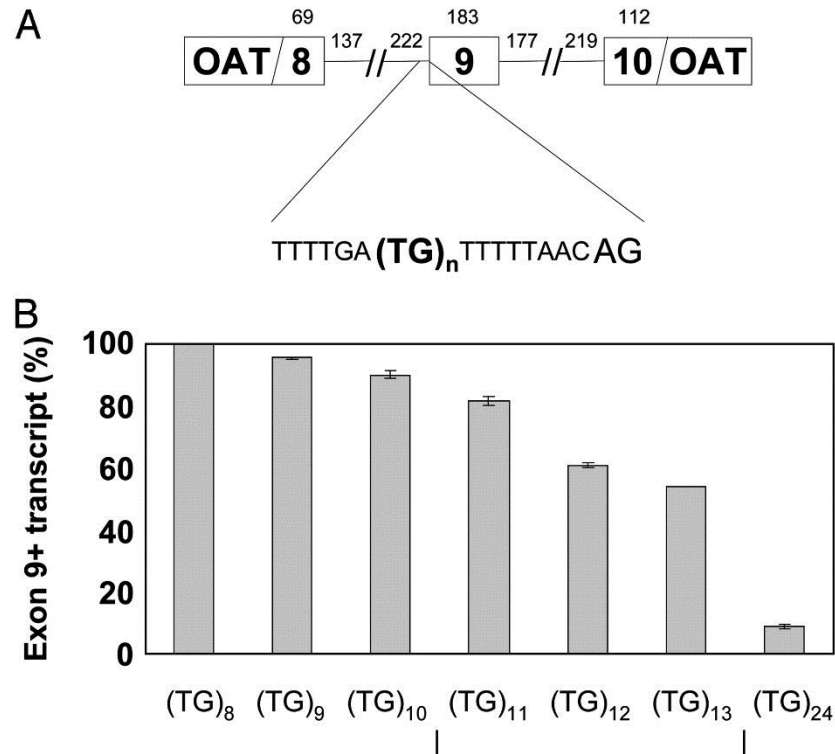
Žena: zdravá -----> atypická CF -----> typická CF

Muž: CBVAD -----> atypická CF -----> typická CF

Sekvenční varianty CFTR

196 sekvenčních variací v genu CFTR

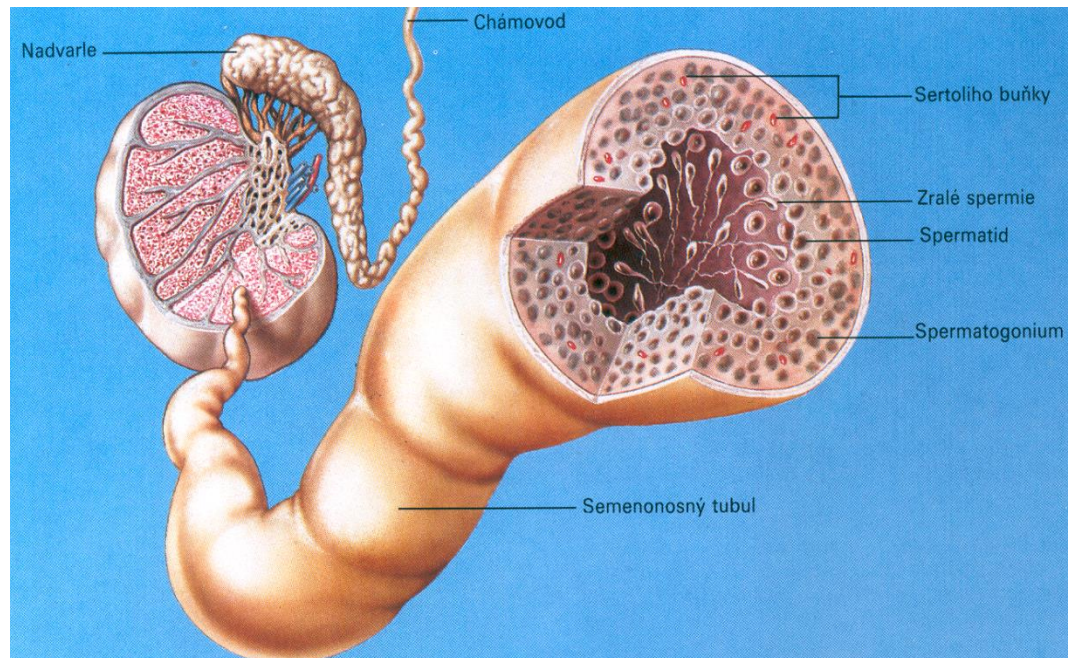
PolyT-TG alelické varianty (Tn) v intronu 8 genu CFTR



Kongenitální bilaterální absence vas deferens (CBVAD)

popsáno 25 mutací asociovaných s CBVAD

v exonech missense
v intronech mRNA splicing defekt



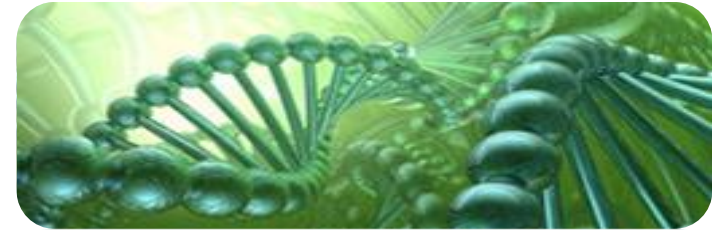
**Frekvencventované
CBVAD mutace:**

- 5T vatianta v intrv IVS8
- R117H
- 10,11,12 TG v IVS8

Molekulární diagnostika

cystické fibrózy

Mutační analýza CFTR genu



Přímá dg.

Scoring nejčastějších mutací

- Amplifikace úseku s předpokládanou delecí
- PCR s primery ohraničujícími předpokládané delece v DNA
- SSCP s pozitivními kontrolami
- analýza teploty tání s pozitivními kontrolami
- PCR s primery ohraničujícími předpokládané delece v DNAi
- hybridizace PCR produktu s alelově specifickými oligonukleotidy
- PCR s alelově specifickými primery (ARMS test)

Scanning raritních mutací

- jednořetězcový konformační polymorfismus (SSCP)
- denaturační gradientová elektroforéza
- analýza teploty tání
- sekvenování
- next generation sequencing

Nepřímá dg.

Vazebná analýza pomocí STR

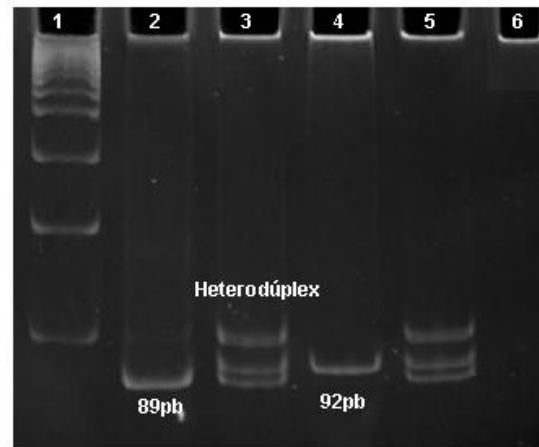
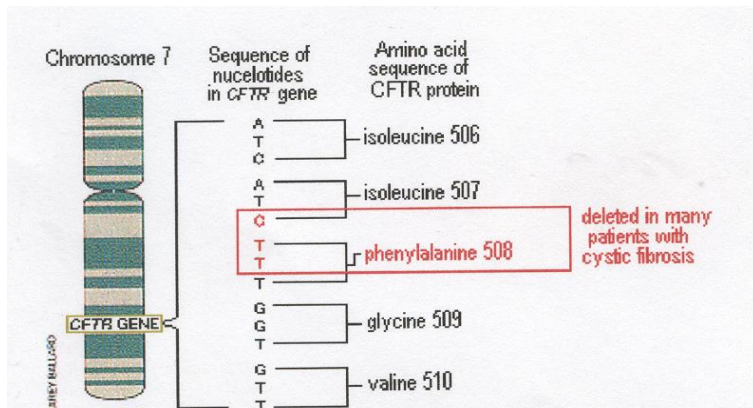
Analýza exprese

IVS8 poly T-TG

Amplifikace úseku s předpokládanou delecí



CF mutace F508del



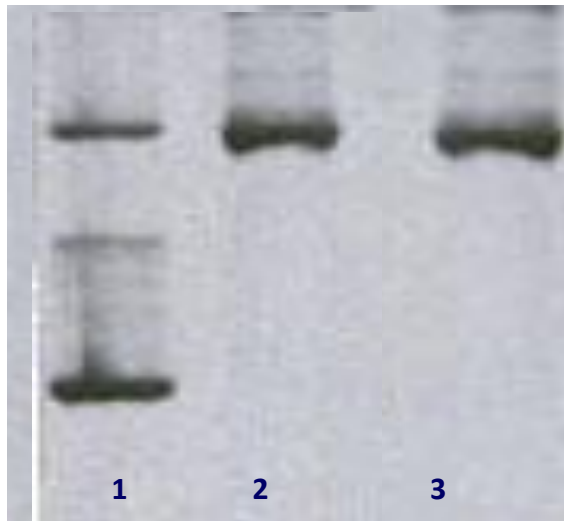
1. Marker
2. [F508del];[F508del]
3. [F508del];[=]
4. wt
5. [F508del];[=]

delece tří nukleotidů CTT v CF exonu 10
ztráta jedné aminokyseliny – fenylalaninu v pozici 508 v CFTR proteinu

PCR s primery ohraničujícími předpokládané místo delece



úspěšná amplifikace odhalí místo specifické přestavby v DNA



Polyacrylamidová gelová elektroforéza

duplex PCR produktu:

1. Primery 2,3F a 2,3R -ohraničují deleční bod zlomu

amplifikace 207bp dlouhého produktu

přítomnost delece

2. Kontrolní primery 3i-5 a 3i-3

amplifikace 309bp dlouhého produktu obsahujícího exon 3

nepřítomnost delece

*Duplex PCR zajišťuje interní amplifikační kontrolu
a umožňuje rozlišit mezi homozygtem a heterozygotem
pro deleci*

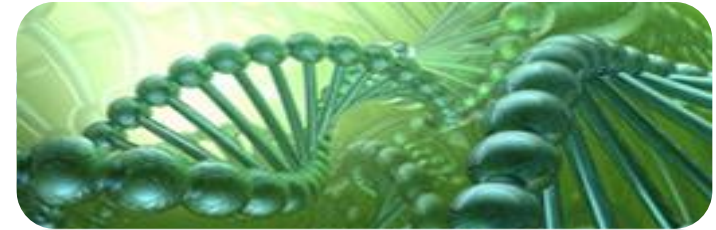
ELFO: 5% PAGE, 200 V, 20°C, 2hours

1. [CFTRdele2,3(21kb)];[=]

2. wt

3. wt

Jednořetězcový konformační polymorfismus SSCP

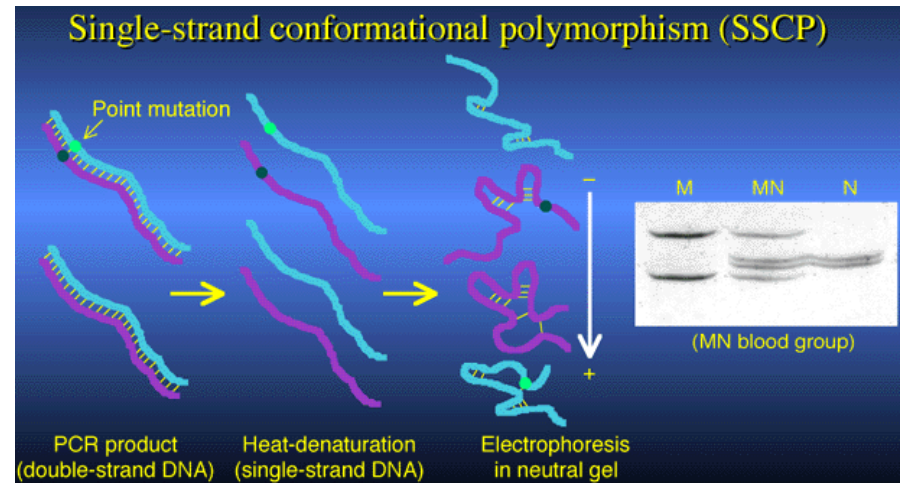


technika založená na elektroforetické mobilitě jednořetězců DNA.

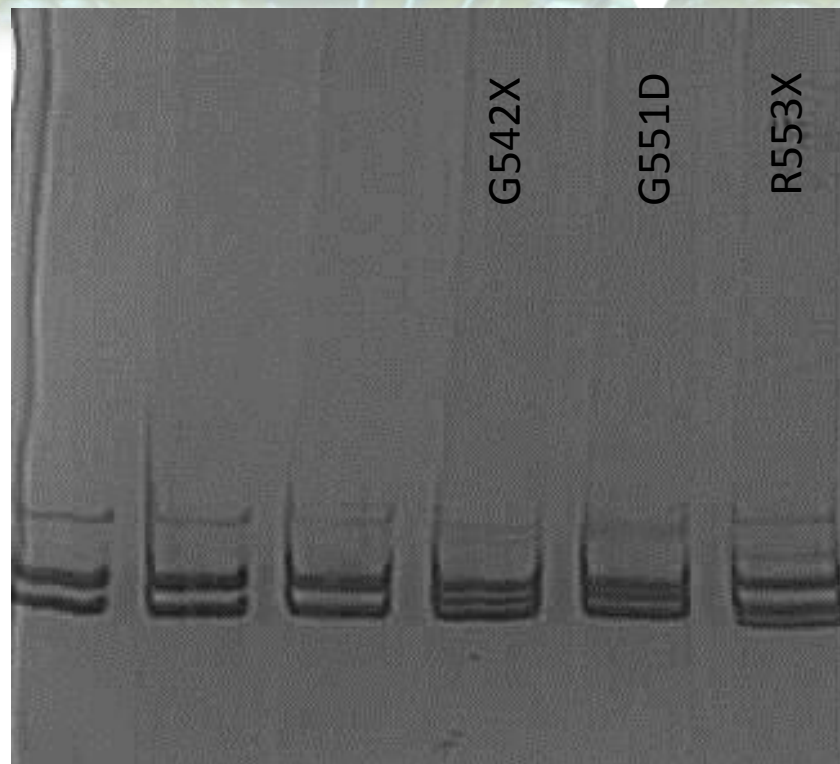
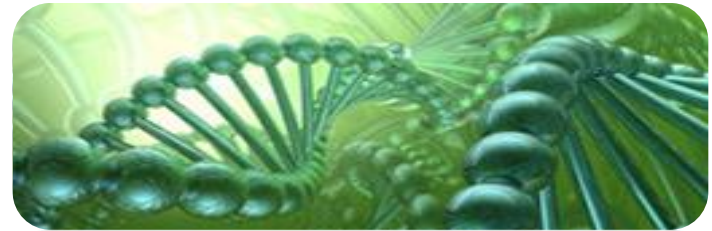
Cílový produkt amplifikace DNA je teplotně denaturován na jednořetězce a je podroben elektroforéze.

Za nedenaturujících podmínek zaujímá ssDNA sekundární strukturu podmíněnou sekvencí nukleotidů.

Přítomnost mutace tuto strukturu mění, tím je ovlivněna i rychlost migrace DNA a na gelu nebo v kapiláře můžeme detekovat nadbytečný proužek nebo pík.



Jednořetězcový konformační polymorfismus SSCP



ELFO: 8% PAGE, 200 V, 20°C, 2 hours

Test založený na analýze bodu tání
fluorescenčně značených prob
po vysokorychlostní PCR na přístroji LightCycler



Test založený na analýze bodu tání fluorescenčně značených prob po vysokorychlostní PCR na Real-Time PCR



Pro detekci produktu v průběhu PCR existují následující metody:

Na DNA se vázající interkalační barviva
SYBR green I

Na menší žlábek dsDNA se vázající barviva
BEBO

Technologie využívající fluorescenční výměny
dvakrát fluorescenčně značené sondy vázající se
na střední část amplifikovaného produktu

TaqMan

Molekulární majáky

QZyme

jedenkrát fluorescenčně značené sondy nebo
primery

FRET

LUX

PNA

dvakrát fluorescenčně značené primery

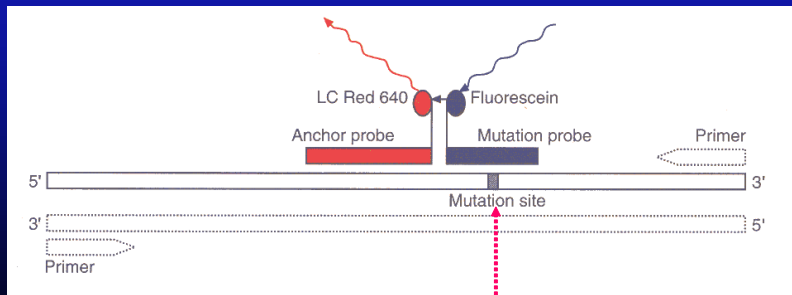
AmpliFluor

Scorpions

Detekce mutace F508del

PCR:
jeden pár primerů

Analýza bodu tání:
jeden systém prob

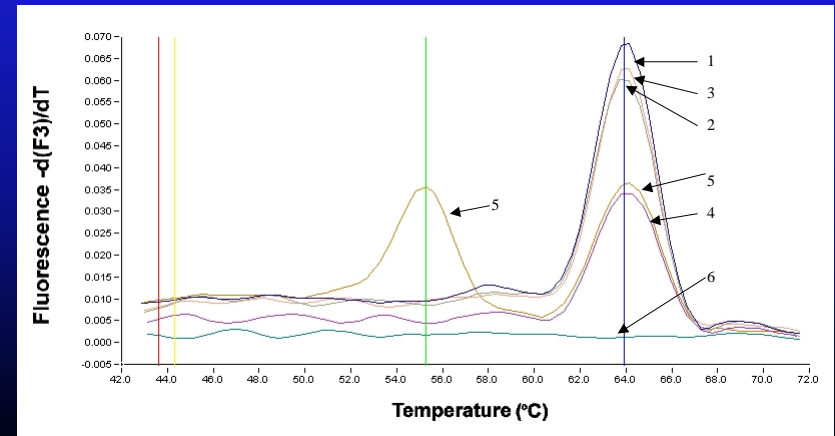


according to Burgraf, 2001

F508del

Fluorescenční monitoring dF508 lokusu

1	wt
2	wt
3	wt
4	wt
5	dF508/nondF508
6	K ^{-DNA}



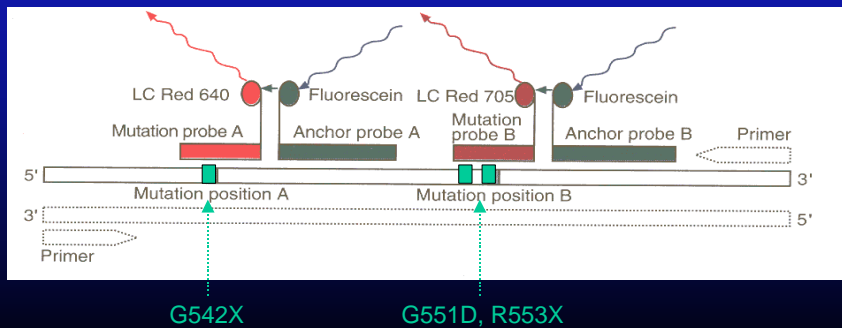
LightCycler

Roche

Detekce mutací G542X, G551D a R553X

PCR:
jeden pár primerů

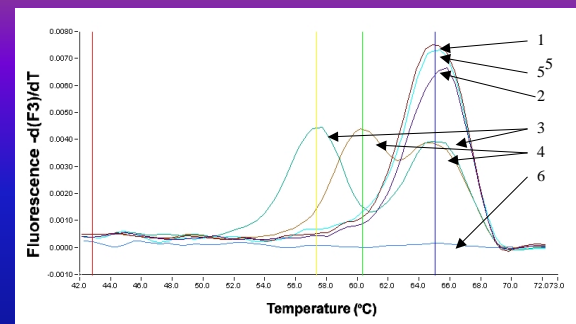
Analýza bodu tání:
dva systémy prob



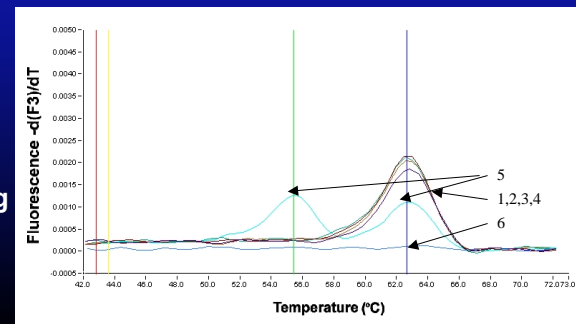
according to Burgraf, 2001

Fluorescenční monitoring
G551D/R553X lokusu

- 1 — wt
- 2 — wt
- 3 — R553X/non
- 4 — G551D/non
- 5 — G542X/non
- 6 — K-DNA



Fluorescenční monitoring
G542X lokusu



LightCycler

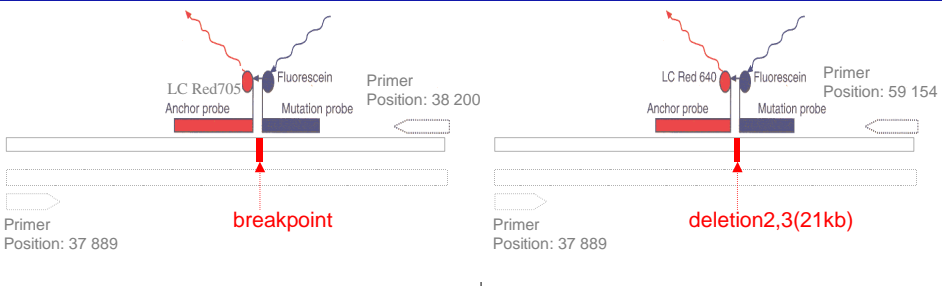
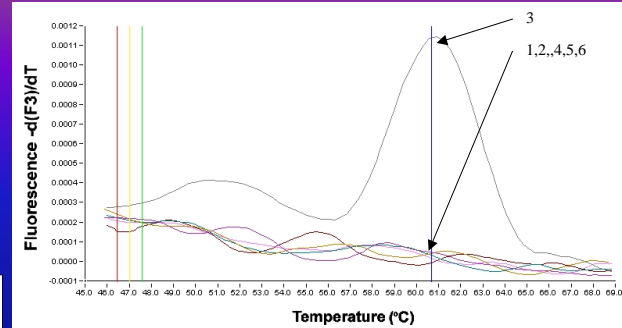


Detekce mutace CFTRdele2,3(21kb)

PCR:
jeden F primer
dva specifické R primery

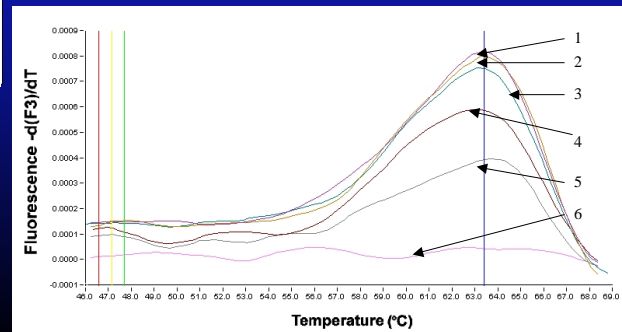
Analýza bodu tání:
dva systémy prob

Fluorescenční analýza lokusu s delecí



- 1 — wt
- 2 — wt
- 3 — CFTRdele2,3(21kb)/non
- 4 — wt
- 5 — wt
- 6 — K-DNA

Fluorescenční analýza lokusu bez delece



Alela bez delece - wt

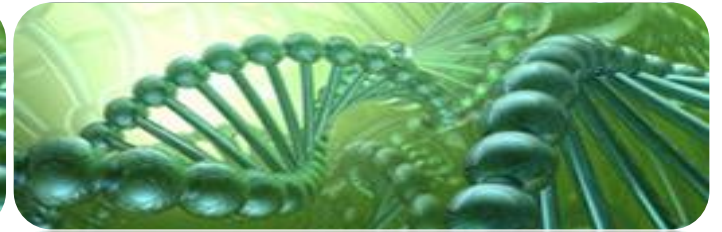
Alela s delecí - mt

LightCycler





LiPA *CFTR*19 and INNO-LiPA *CFTR*17+Tn



Metoda fluorescenční multiplex ARMS (amplification refractory mutation system)



Princip:

Mismatch PCR primeru na 3' konci znemožňuje PCR

- Metodické provedení:

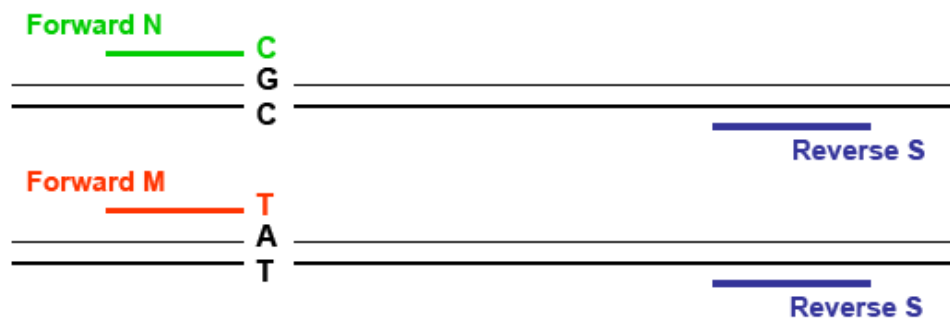
–3 primery:

- 1 spec. pro normální alelu (N) –forward primer
- 1 spec. pro mutovanou alelu (M) –forward primer
- 1 společný (S) -reverse primer
- plus pár primerů pro kontrolní PCR reakci

–2 PCR reakce:

	NN	NM	MM
• 1. PCR S-N	+	+	-
• 2. PCR S-M	-	+	+

Metoda fluorescenční multiplex ARMS (amplification refractory mutation system)



ARMS primery	M + S	N + S
PCR produkty: MM	+	-
PCR produkty: MN	+	+
PCR produkty: NN	-	+

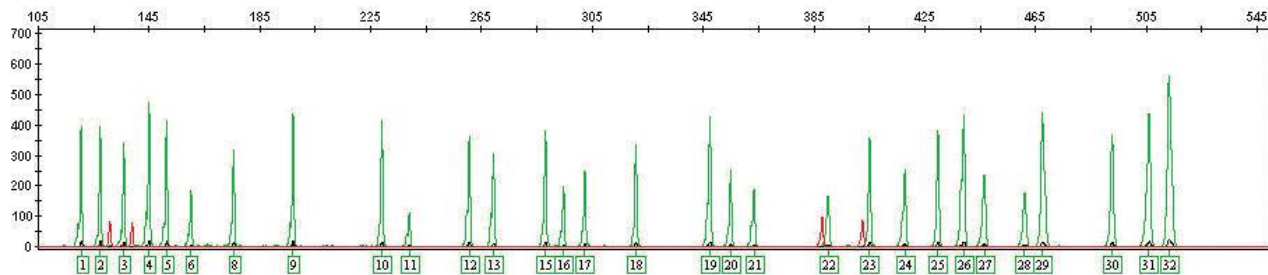
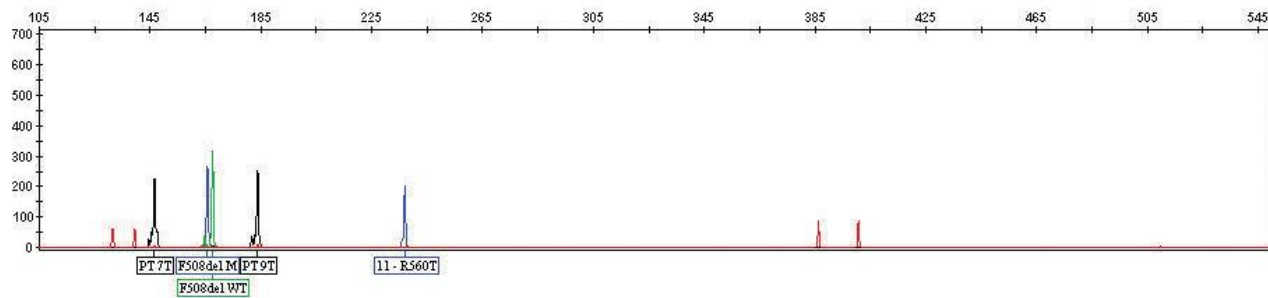
Metoda fluorescenční multiplex ARMS (amplification refractory mutation system) Elucigene CF-EU



Detekované mutace

CFTRdele 2,3

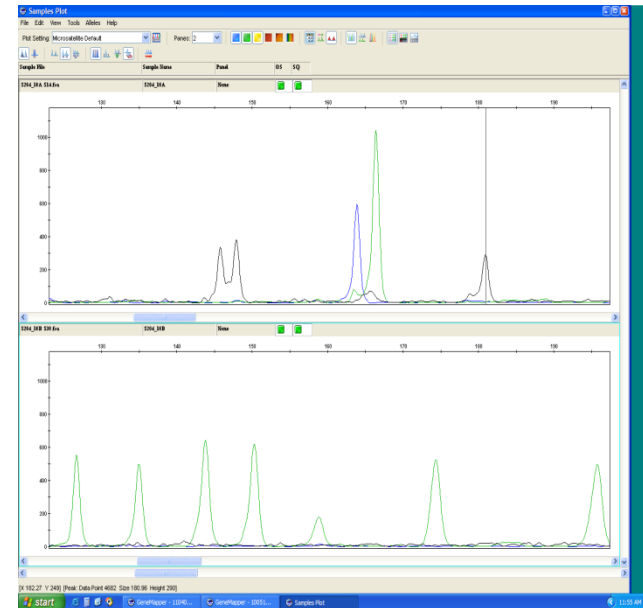
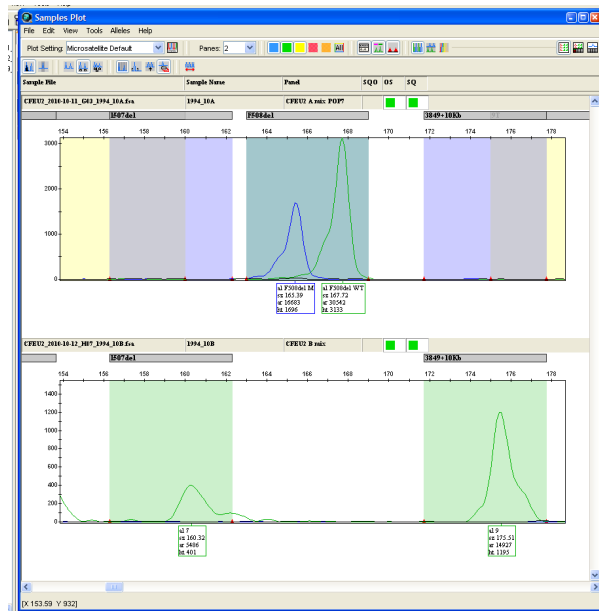
- | | |
|-----------|--------------|
| E60X | R560T |
| P67L | 1898+1G>A |
| G85E | 2184delA |
| R117H | 2789+5G>A |
| 621+1G>T | 3120+1G>A |
| 711+1G>T | M1101K |
| 1078delT | D1152H |
| R334W | R1162X |
| R347P | 3659delC |
| A455E | 3849+10kbC>T |
| I507del | S1251N |
| F508del | 3905insT |
| 1717-1G>A | W1282X |
| G542X | N1303K |
| S549RT>G | |
| G551D | |
| R553X | |

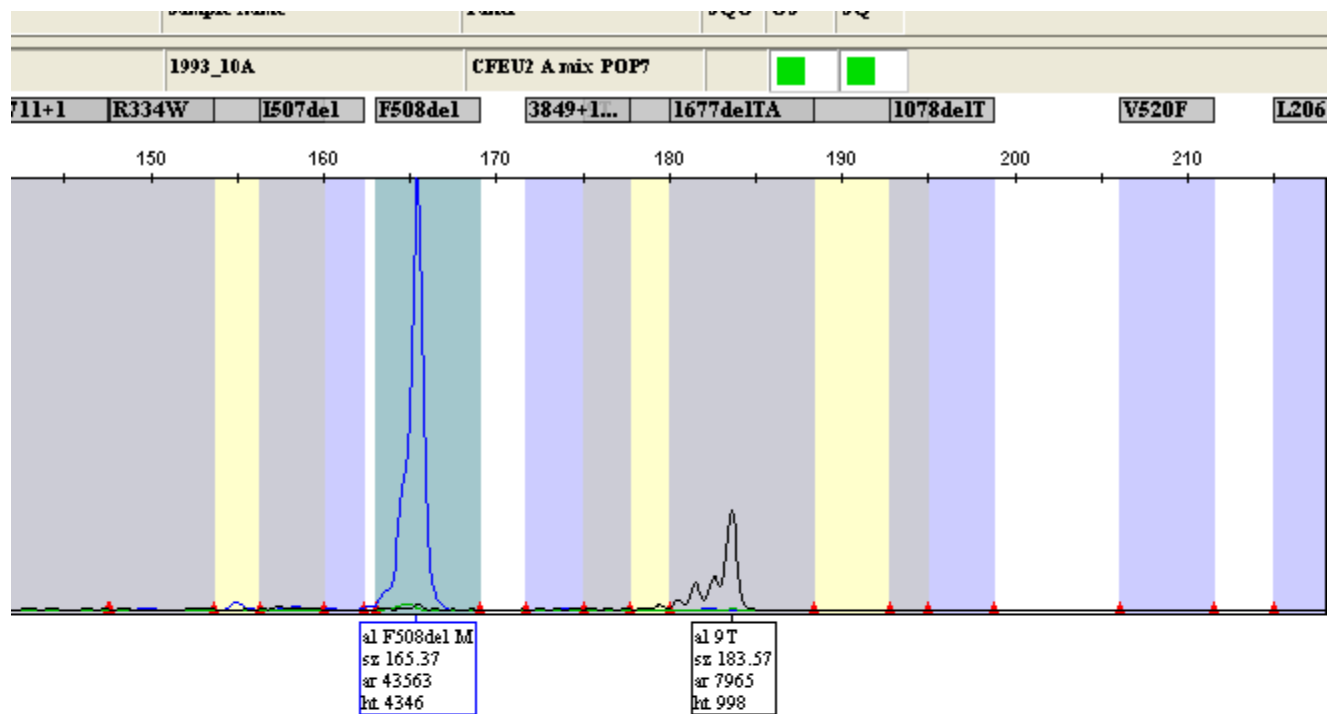


Elucigene CF-EU



Metoda fluorescenční multiplex ARMS (amplification refractory mutation system)





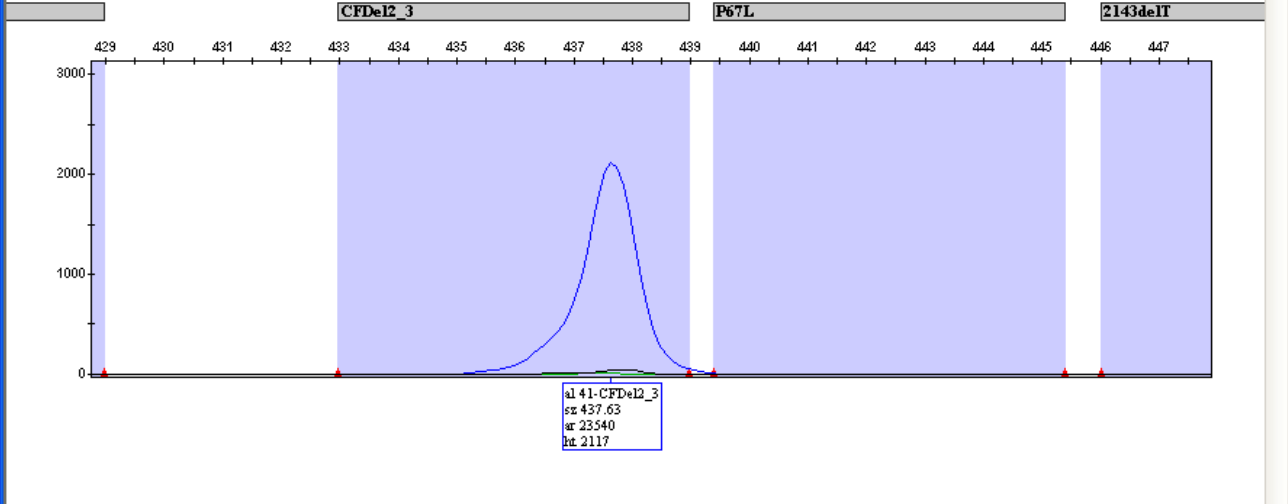
Samples Plot

File Edit View Tools Alleles Help

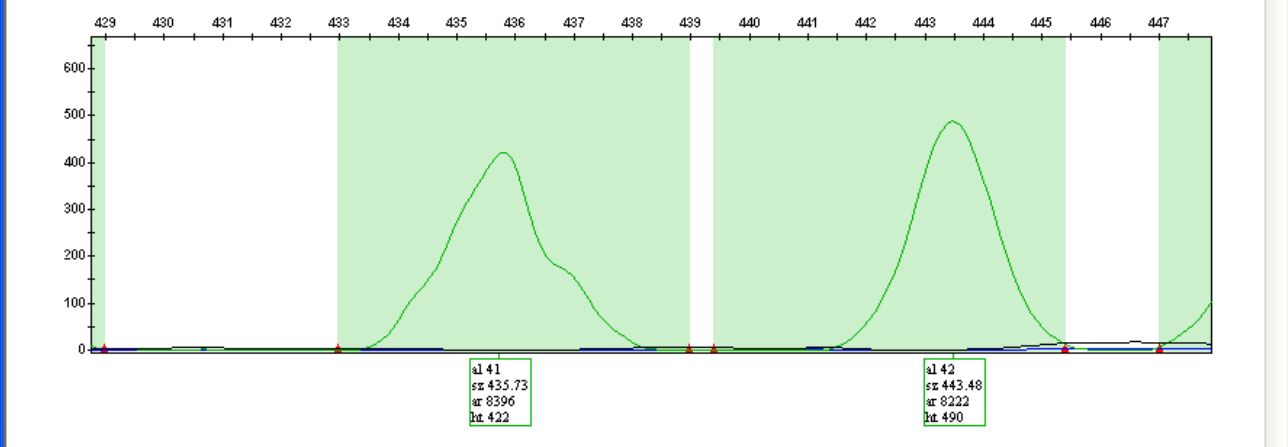
Plot Setting: Microsatellite Default Panes: 2

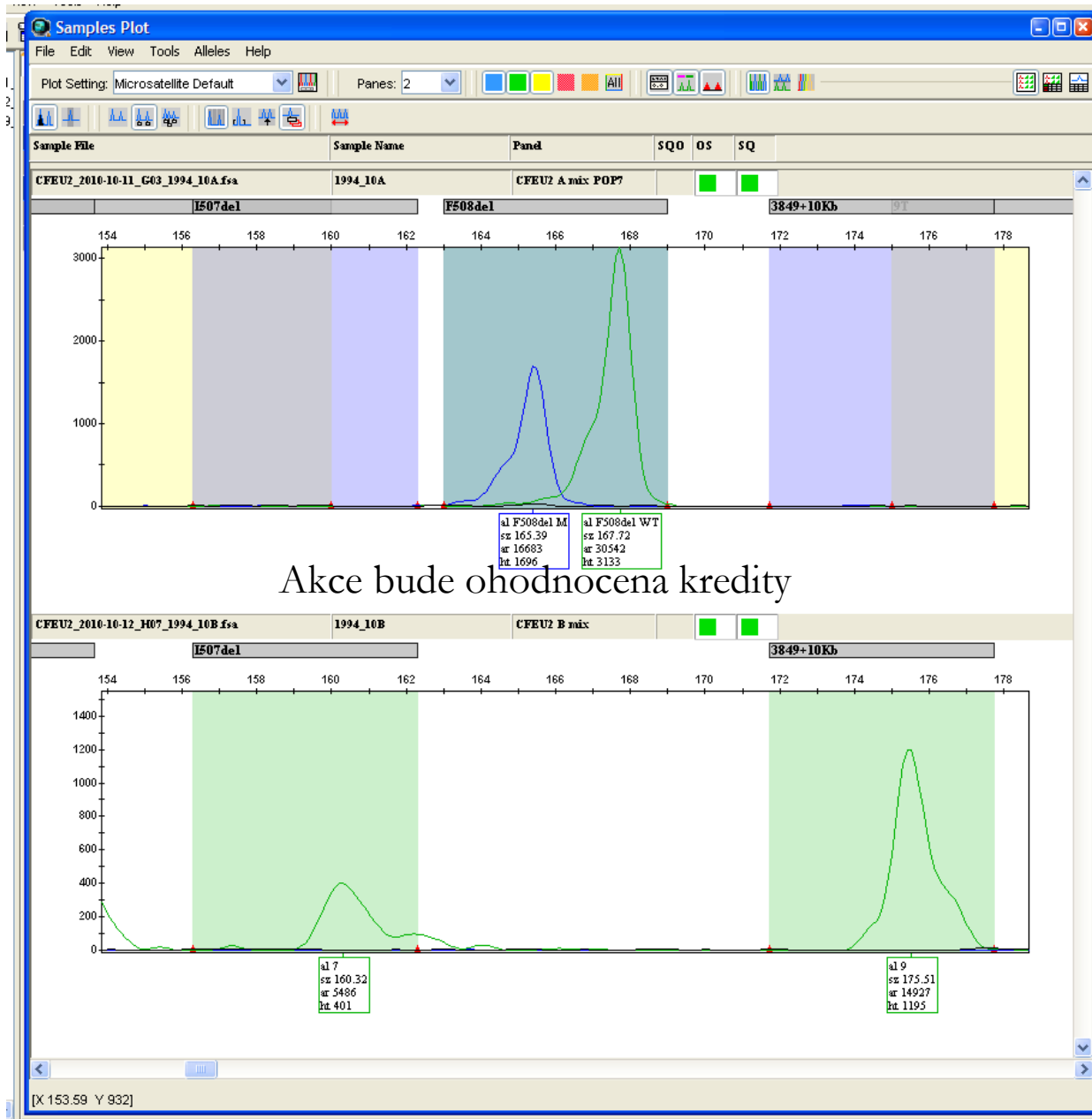


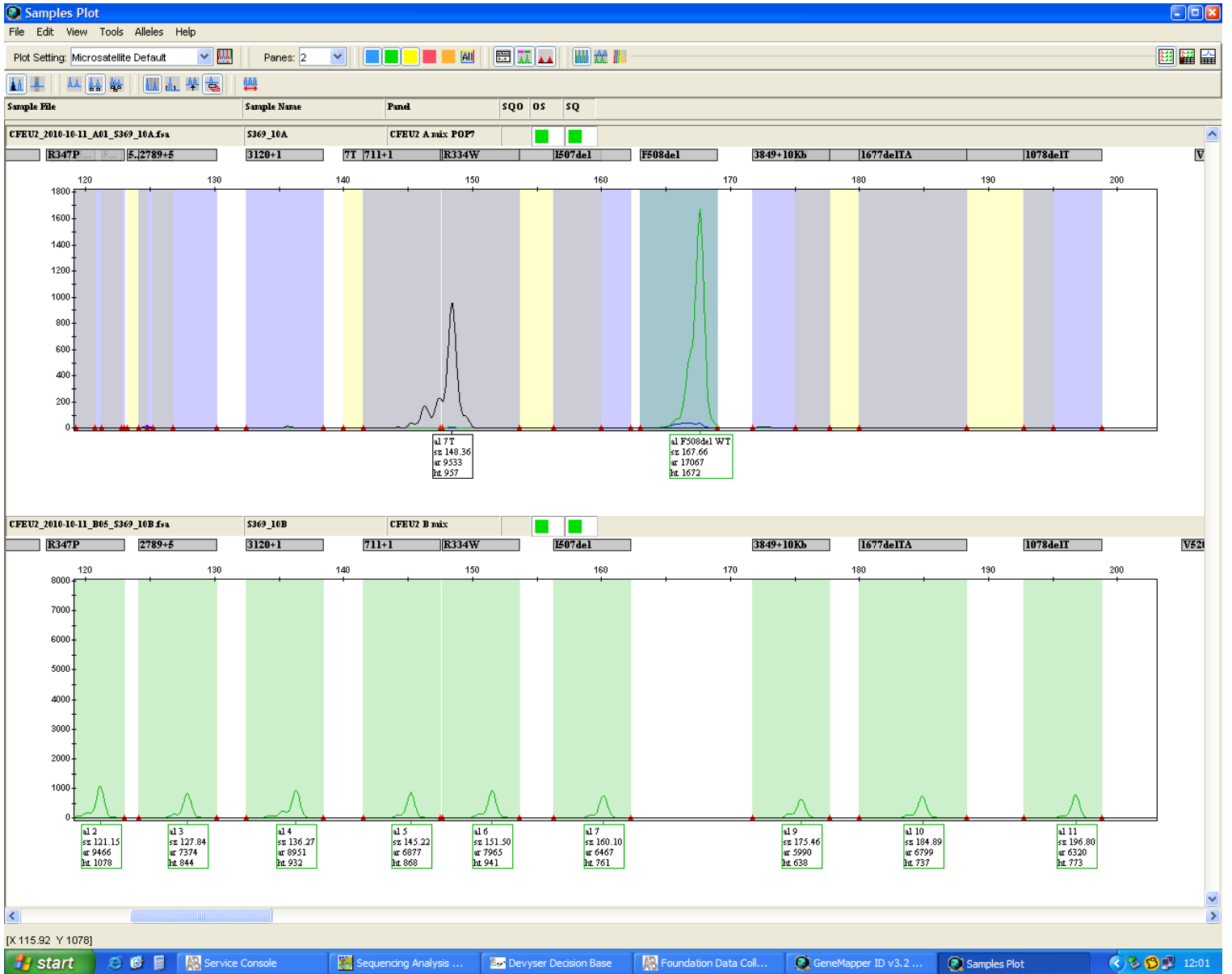
Sample File	Sample Name	Panel	SQ0	OS	SQ
CFE02_2010-10-11_G03_1994_10A.fsa	1994_10A	CFE02 A mix POP7	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

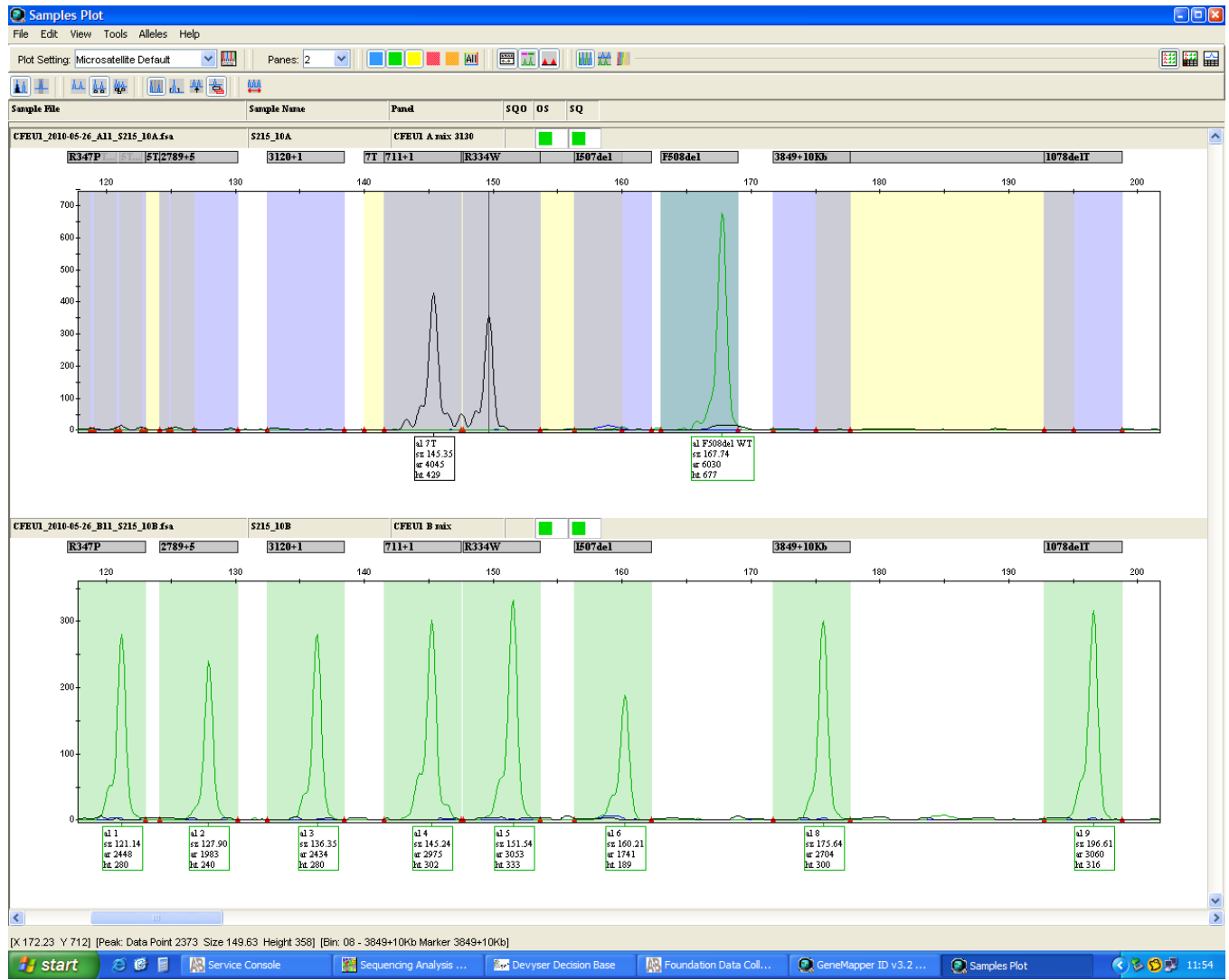


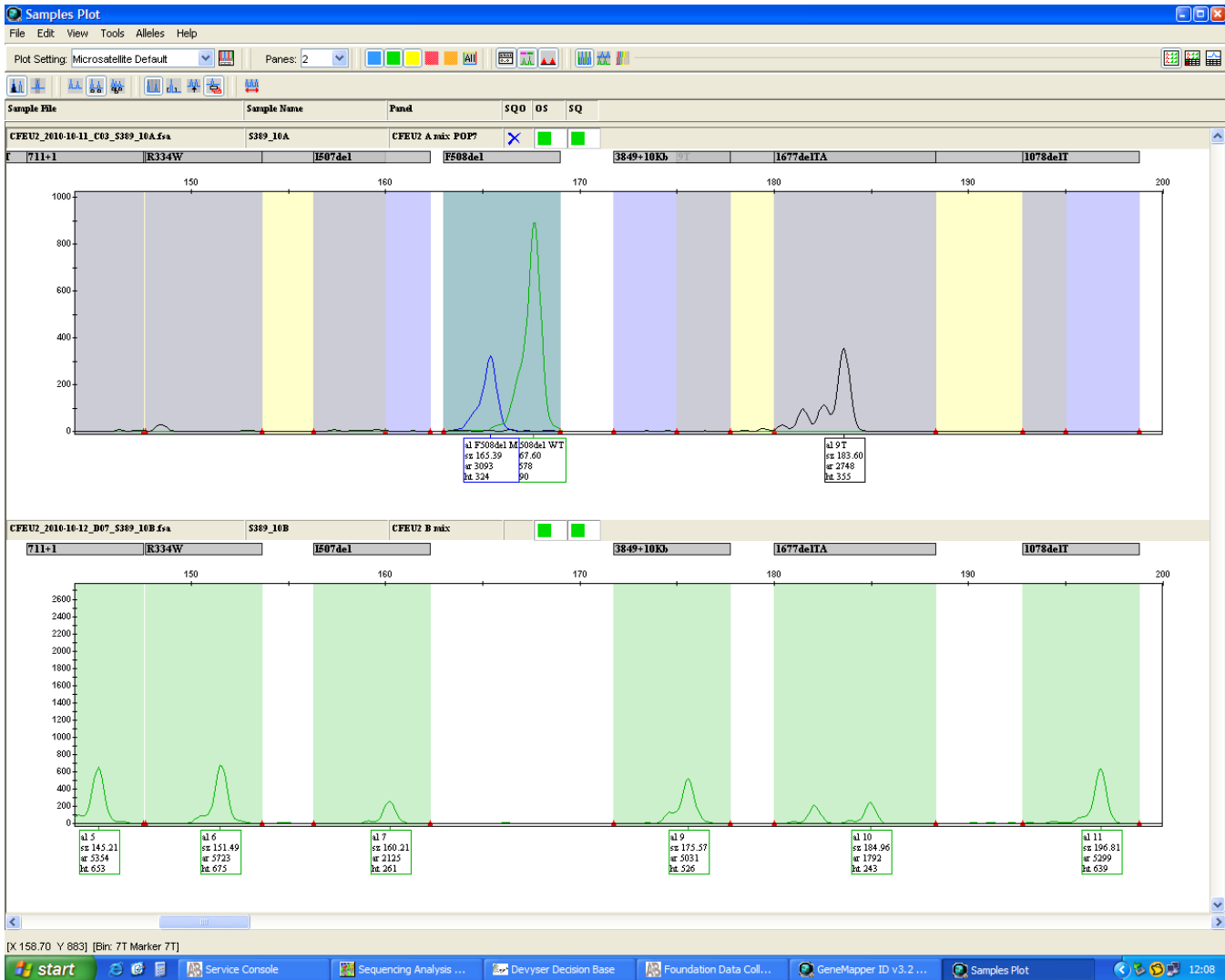
Sample File	Sample Name	Panel	SQ0	OS	SQ
CFE02_2010-10-12_H07_1994_10B.fsa	1994_10B	CFE02 B mix	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

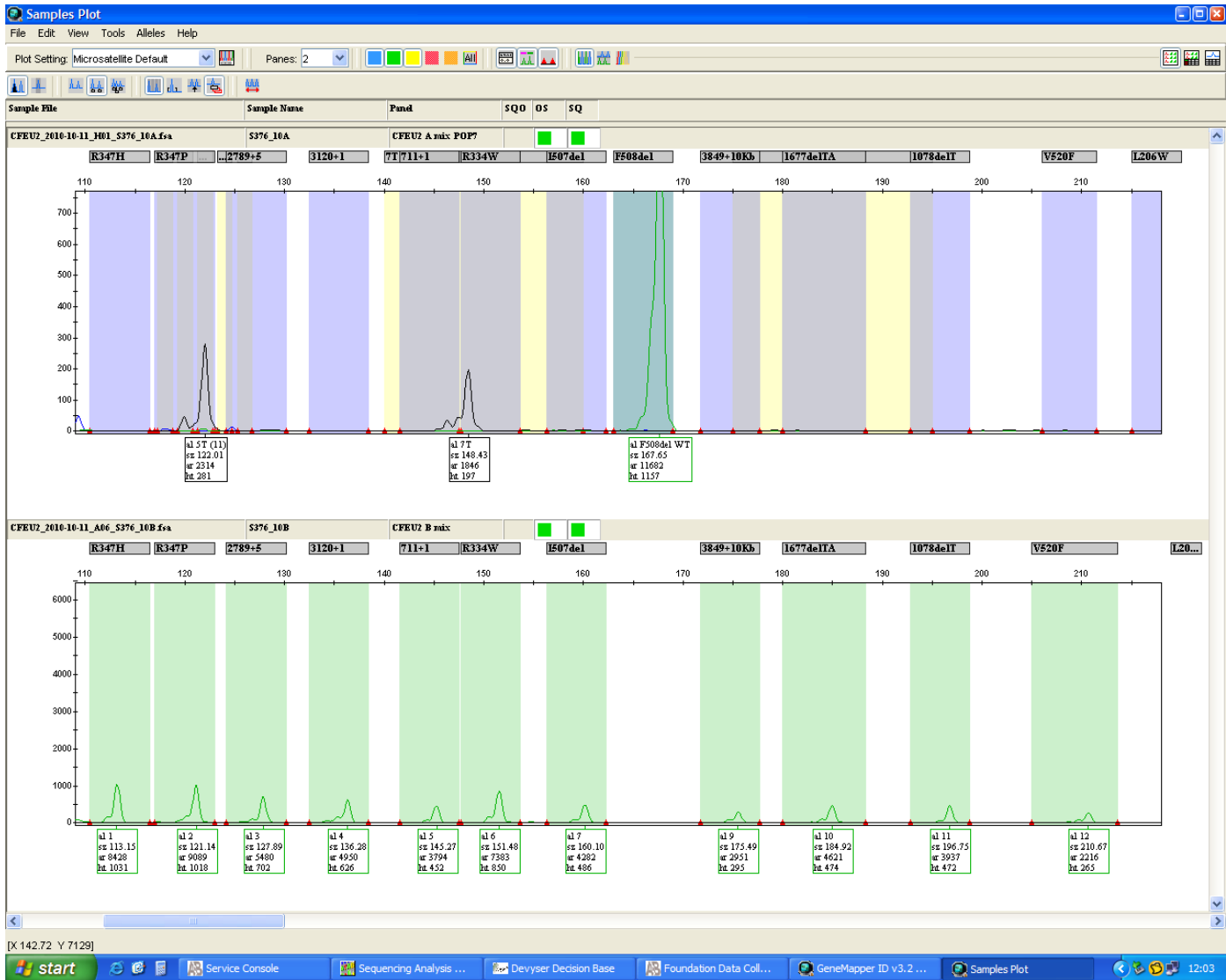


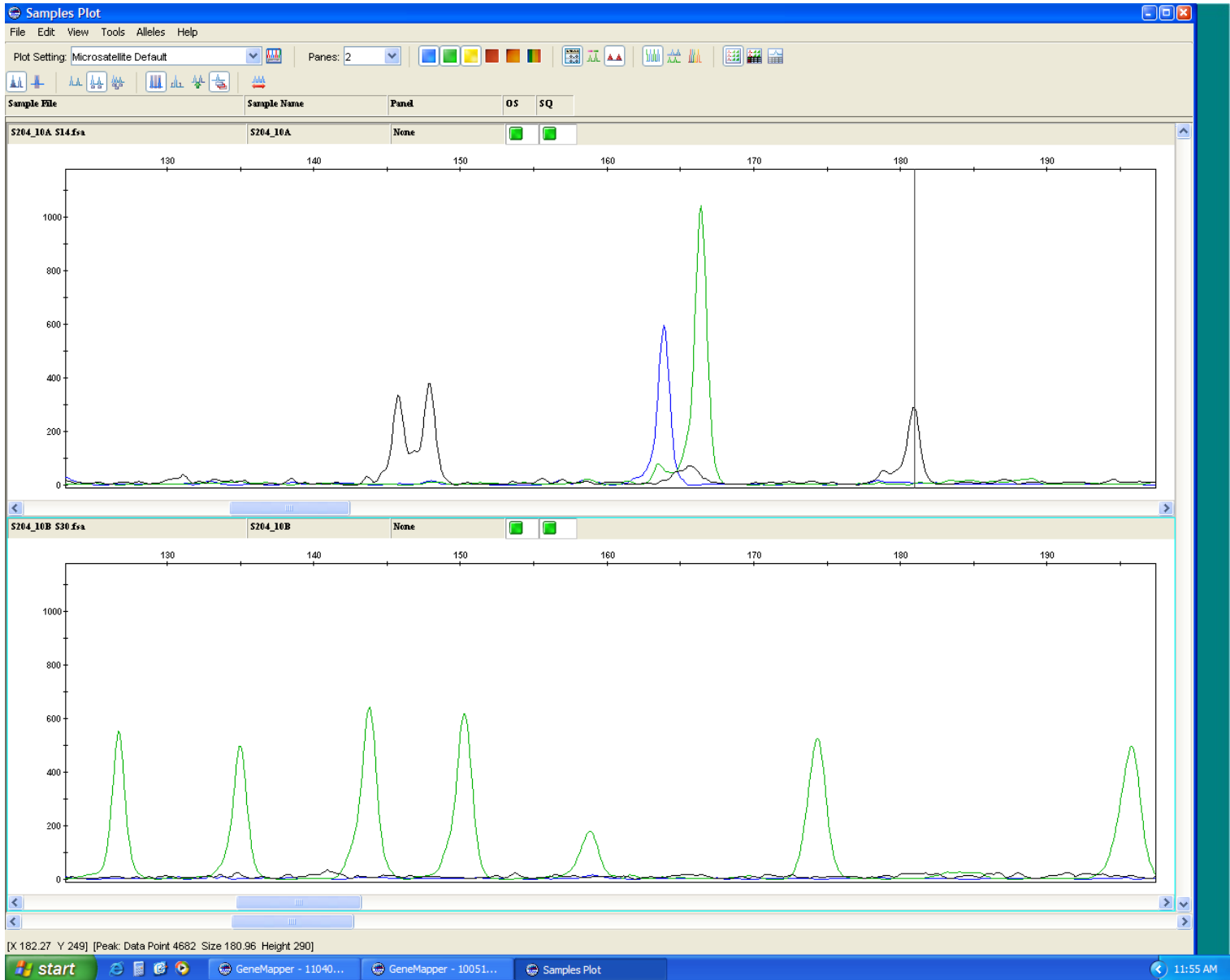








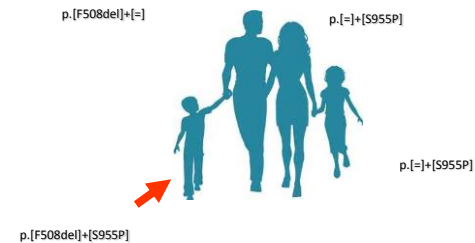
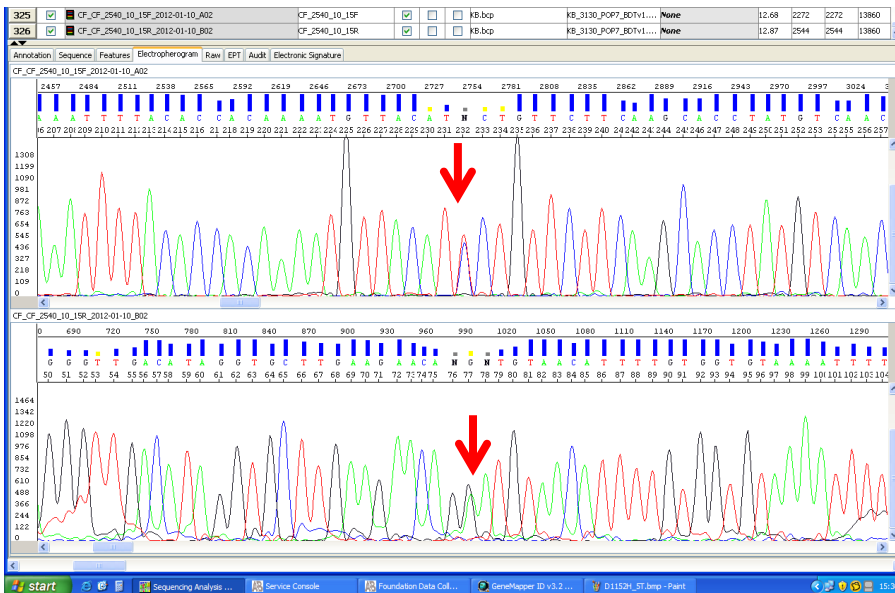




Sekvenování



nová missense mutace c.2863T>C, p. S955P.



E15	47..57 (2537..2547) / 11bp	hs/Del	GGAACACATAC -> TCGGTCACAAGAG (het)	39% (169) [34% (72) / 44% (97)]	[STOP] AA 880 (E15/88)	c.2537_2547delins
-----	----------------------------------	--------	--	---	---------------------------	-------------------

JSI Sequence Pilot

System SeqNext Help

Administration **Sequence 145_95 / 123280002**

LIS

SeqNext

Order | Protocol | Family | all 38 | distinct 9 | other 9 | homopolymer 20 | all Genes selected Gene

Order No: 123280002
 Patient: P-145_95
 DNA No.: 145_95
 Date: 11/23/2012 13:11:10

Settings:
 Barcode: AGCACTGTAG
 Processing: separated
 Distinct coverage: 10%
 Ignore coverage: 5%
 Min absolute coverage: 0
 State: compl.

in	Pos.	Type	Nuc Change	Coverage	AA Change	C...	Hint	web Ref.
136	(715)	C	G -> A (het)	58% (29) [64% (18) / 50% (11)]	G -> R (239)			
+11		C	C -> T (het)	38% (22) [36% (12) / 40% (10)]				
16	(1408)	C	G -> A (homo)	100% (260) [100% (119) / 100% (141)]	V -> M (470)			
129..131	(1521..1523) / 3bp	D	CTT (het)	52% (135) [44% (52) / 59% (83)]	IF -> I (507..508)			
13	(2503) / 1bp	I (Dup)	T (het)	61% (233) [56% (102) / 66% (131)]	[STOP] AA 835 (E15/13)		RF changed	
47..57	(2537..2547) / 11bp	Ins/Del	GGAACACATAC...	39% (169) [34% (72) / 44% (97)]	[STOP] AA 860 (E15/88)		RF changed	
72	(2562)	C	T -> G (het)	48% (209) [44% (94) / 52% (115)]	T -> T (854)			
147	(4389)	C	G -> A (het)	42% (11) [14% (2) / 75% (9)]	Q -> Q (1463)			

Files

File: HU7H95... Bases: 5623 Var: 9 /

ROI Groups

Name	Bases	CNV	Var.
CFTR	5623		9 / 29

Genes / Chromosomes

Gene	Bases	Var.	Condit...
CFTR	5623	9 / 29	

ROIs / Locations

Name	B...	V.	Cov...
CFTR-E15-cf	170	3..	low
CFTR-E16-cf	78	0..	
CFTR-E17-cf	291	0..	
CFTR-E18-cf	120	0..	
CFTR-E19-cf	191	0..	low
CFTR-E20-cf	268	0..	low
CFTR-E21-cf	141	0..	low

Exon/Intron

CFTR / Exon 15

Comments

Show

reading: 1 | check: web + m. | web + mut: 0 |

edited: 0/0 | het. pos.: 1/34 | mism.: 1/16

Functions: Previous, Next, T.V., M.V., print..., Extras ->, Protocol

Ready. JSI

CS 16:05 23.11.2012

Nová mutace

S159P

ISI Sequence Pilot

System SeqNext Help

Administration Sequence 2540_10 / 123280007

LIS

SeqNext

Order | Protocol | Family | all 29 | distinct 8 | other 4 | homopolymer 17

Order No.: 123280007
Patient: P-2540_10
DNA No.: 2540_10
Date: 11/23/2012 13:12:55
Settings:
Barcode: CGTGTCTCTA
Processing: separated
Distinct coverage: 10%
Ignore coverage: 5%
Min absolute coverage: 0
State: compl.

	Type	Nuc Change	Coverage	AA Change	C... Hint	web Ref.	mut Ref.
408	C	C -> T (het)	51% (41) [41% (13) / 58% (28)]	V -> M (470)			
	C	G -> A (het)	57% (128) [64% (52) / 54% (76)]	IF -> I (507..508)			
131 (1521..1523) / 3bp	D	CTT (het)	57% (127) [63% (51) / 54% (76)]	[STOP] AA 835 (E15/13)	RF changed		
503 / 1bp	I (Dup)	T (het)	52% (193) [42% (73) / 60% (120)]				
2863	C	T -> C (het)	48% (151) [50% (66) / 46% (85)]	S -> P (955)			
3367	C	G -> T (het)	59% (257) [77% (244) / 11% (13)]	G -> [STOP] (1123)			
	C	T -> G (het)	59% (257) [77% (244) / 11% (13)]	splicing			
	C	T -> A (het)	59% (257) [77% (244) / 11% (13)]				

Files

File Organ... Bases Val

1 file: HU7H95... 5622 8 /

ROI Groups

Name	Bases	CNV	Var.
CFTR	5622	8 / 21	

Genes / Chromosomes

Gene	Bases	Var.	Condit...
CFTR	5622	8 / 21	

ROIs / Locations

Name	B...	V.	Cov...
CFTR-E14-cf	764	0..	
CFTR-E15-cf	170	1..low	
CFTR-E16-cf	78	0..	
CFTR-E17-cf	291	1..	
CFTR-E18-cf	120	0..	
CFTR-E19-cf	191	0..low	
CFTR-E20-cf	268	3..low	

Exon/Intron

Comments

Show

reading check web + mut

2 web + m... 0

edited het. pos. mism.

0/0 1/1 1/1

Functions

Previous Next

T.V. M.V. print...

Extras -> Protocol

Ready.

16:25 23.11.2012

Názvosloví



c.[1521_1523delCTT];[350G>A],

p.[Phe508del];[Arg117His],

legacy name: [deltaF508];[R117H],

IVS8 c.[1210-12T(7)];[1210-12T(9)]

Novorozenecký screening cystické fibrózy



Na cystickou fibrózu jsou od roku 2009 testováni všichni novorozenci: diagnóza v prvních týdnech života totiž znamená příznivější prognózu tohoto onemocnění. Díky novorozeneckému screeningu je možné léčbu včas specificky zaměřit – zejména udržet funkční plíce a co nejlepší výživu do doby, než bude k dispozici genová terapie, která je velkou nadějí pro vyléčení nemoci.

Novorozenecký screening cystické fibrózy



1. vyšetření hladiny *imunoreaktivního trypsinogenu (IRT) imunoanalytickou metodou*,
2. při podezření na CF (vysoké IRT) je druhým krokem *molekulárně genetická analýza* nejčastějších, jednoznačně patogenních a populačně významných mutací v genu CFTR ze stejných suchých kapek krve na screeningové kartičce, ve kterých byla zjištěna zvýšená koncentrace IRT,
3. při velmi vysokém IRT a neprokázání mutace je třetím krokem provedení *potního testu* pomocí pilokarpinové iontoforézy



metoda odběru tzv. **suché kapky krve** na novorozenecké screeningové kartičce