



Centrum molekulární biologie a genetiky NÁDOROVÁ CYTOGENOMIKA

MUNI
PŘÍRODOVĚDECKÁ
FAKULTA

2020

MUNI
LÉKAŘSKÁ
FAKULTA

NÁDOROVÁ CYTOGENOMIKA

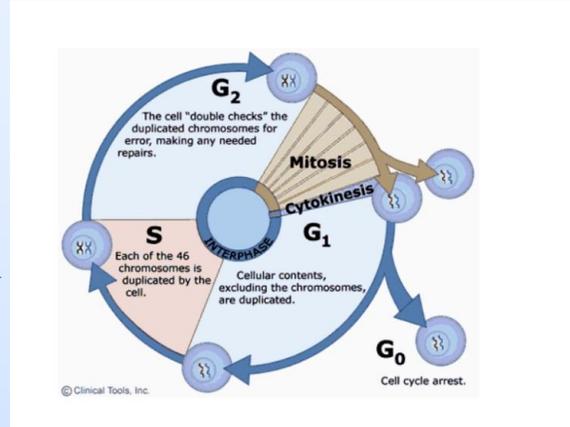
- slouží k určení získaných chromosomových změn u hemato–onkologických malignit
- vyšetření má význam:
 - přispívá k určení klinické diagnózy nebo jejímu potvrzení
 - k určení prognózy
(**dobrá** – inv(16), t(18;21); **špatná** – MLL, del(5q), del(7q), -7, del(17p), komplexní změny karyotypu)
 - volba léčby
 - monitorování onemocnění (remise x relaps)
- vyšetřuje se kostní dřeň, periferní krev a tkáň solidního tumoru
- k určení chromosomových změn jsou používány tyto metody: **cytogenetické vyšetření**, FISH, mFISH, mBAND, array CGH a SNP array

CYTOGENETICKÉ VYŠETŘENÍ



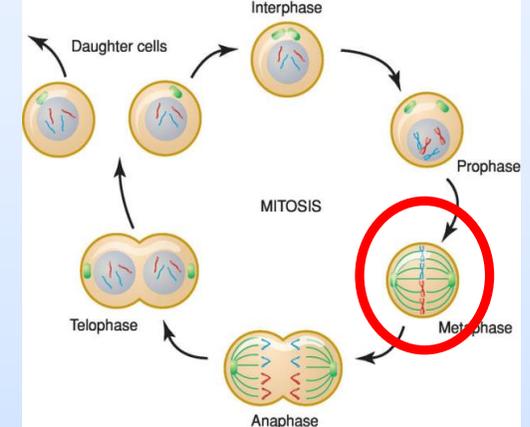
Vlastní zpracování – FN Brno

získ dostatečného množství dělicích se buněk



Převzato a upraveno z: <https://cz.pinterest.com/pin/825636544157492063/>

zástava dělení v metafázi buněčného cyklu



Převzato a upraveno z: <https://www.pinterest.at/pin/515873332309357344/>

vizualizace metafázických chromosomů (G-pruhování)



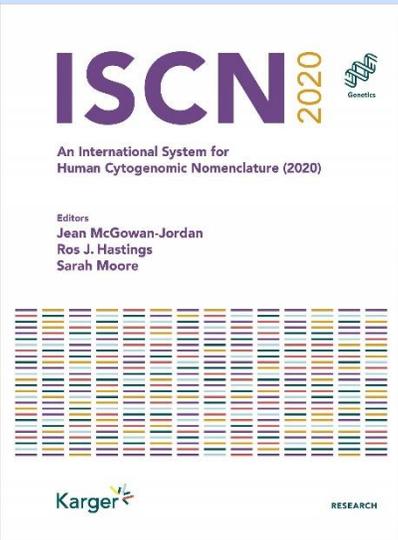
Vlastní zpracování – FN Brno

sestavení karyogramu



Vlastní zpracování – FN Brno

hodnocení dle ISCN



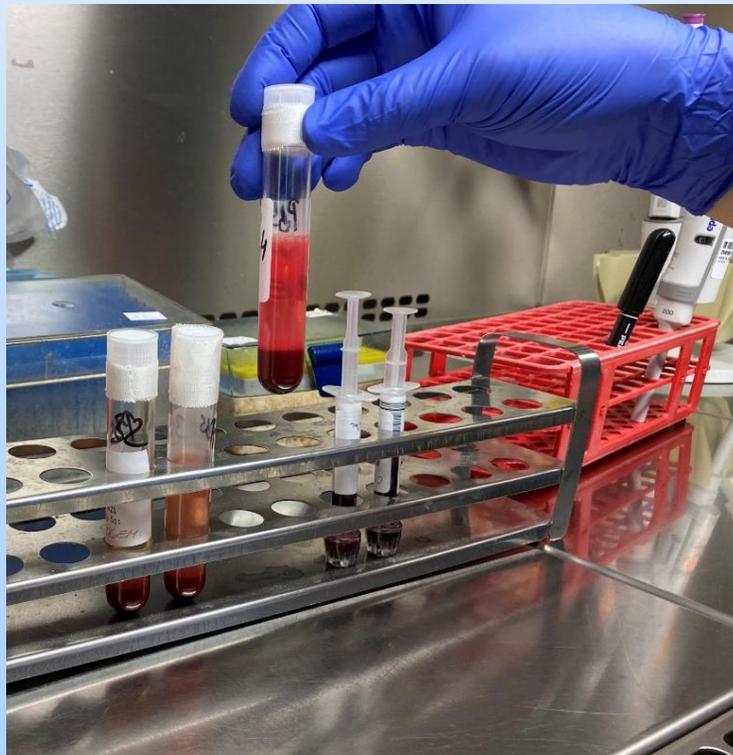
Převzato a upraveno z: <https://www.amazon.ca/iscn-2020-International-Cytogenomic-Nomenclature/dp/3318067067>

PŘÍPRAVA METAFÁZNÍCH PREPARÁTŮ A HODNOCENÍ

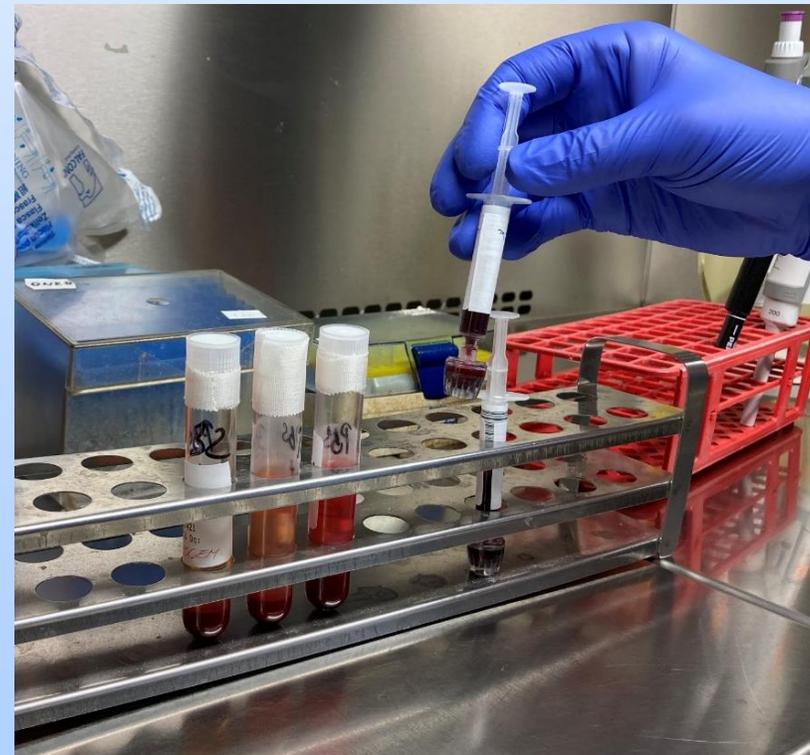
- 1. ODBĚR MATERIÁLU
- 2. KULTIVACE – získání dostatečného množství dělících se buněk
- 3. ZPRACOVÁNÍ SUSPENZE
- 4. NAKAPÁNÍ SUSPENZE NA PODLOŽNÍ SKLO
- 5. PRUHOVÁNÍ / BARVENÍ CHROMOSOMŮ – G – PRUHOVÁNÍ
- 6. VYHLEDÁVÁNÍ METAFÁZÍ
- 7. HODNOCENÍ

1. ODBĚR MATERIÁLU

- kostní dřeň (KD) – **heparin** + PBS (transportní medium)
- periferní krev (PK) – **heparin**
- solidní tumor – D-MEM (transportní medium)



Vlastní zpracování – FN Brno



Vlastní zpracování – FN Brno

2. KULTIVACE

- nasazení do kultivačního media sterilně v laminárním boxu
- kostní dřeň
 - dospělí – Bone Marrow
 - děti – Marrow Grow
 - kultivace 24 hod. při 36 – 37 °C v termostatu s regulovaným přívodem CO₂
- periferní krev
 - RPMI-1640 + IL-2 + DSP30
 - kultivace 72 hod. při 36 – 37 °C v termostatu s regulovaným přívodem CO₂



Vlastní zpracování – FN Brno

3. ZPRACOVÁNÍ SUSPENZE

- působení **kolchicinu** – alkaloid z Ocúnu jesenního
- zastaví dělení v metafázi buněčného cyklu rozrušením mitotického vřeténka, chromosomy zůstávají dvouchromatidové, vhodné k cytogenetické analýze



Převzato a upraveno z: <https://www.bylinkyproveschny.cz/byliny-kere-stromy/jedovate-byliny/1085-ocun-jesenni-ucinky-na-lidsky-organismus-priznaky-otravy>



Vlastní zpracování – FN Brno

3. ZPRACOVÁNÍ SUSPENZE

A) Hypotonizace

- roztok KCl
- vytvoří hypotonické prostředí – dochází k lýze erytrocytů, leukocyt zvětší svůj objem a chromosomy se rozestoupí



3. ZPRACOVÁNÍ SUSPENZE

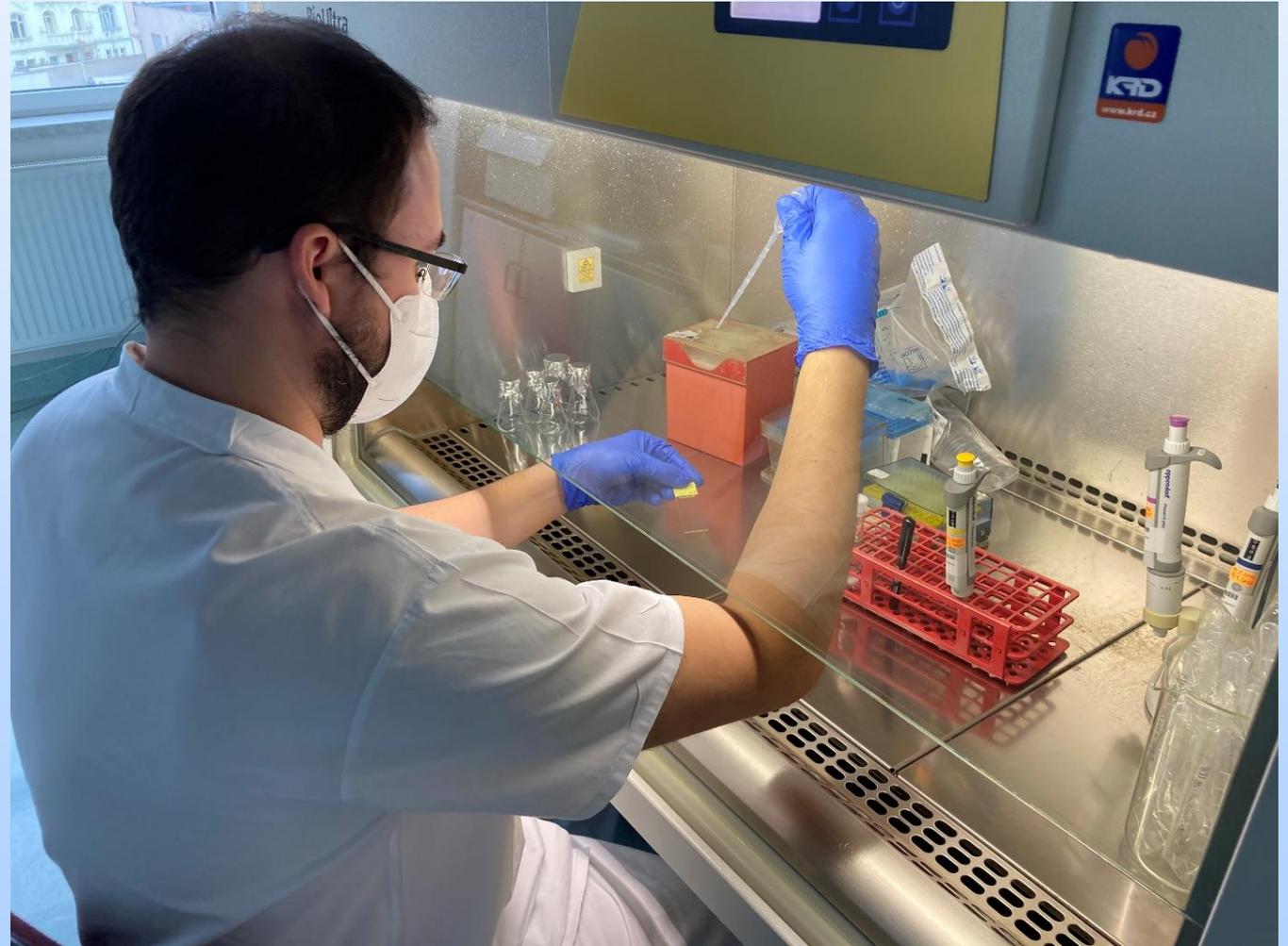
B) Fixace

- fixační roztok – metanol + kyselina octová (v poměru 3:1)
- zlepší viditelnost struktur, zlepší barvitelnost chromosomů a rozpustí nečistoty
- poslední fixací se naředí sediment, tak aby vznikla opaleskující suspenze



4. NAKAPÁNÍ SUSPENZE NA PODLOŽNÍ SKLO

- na označená skla se kápne několik kapek suspenze
- inkubace 20 min. při cca 80 °C v horkovzdušném sterilizátoru, kdy dochází k dehydrataci vzorku



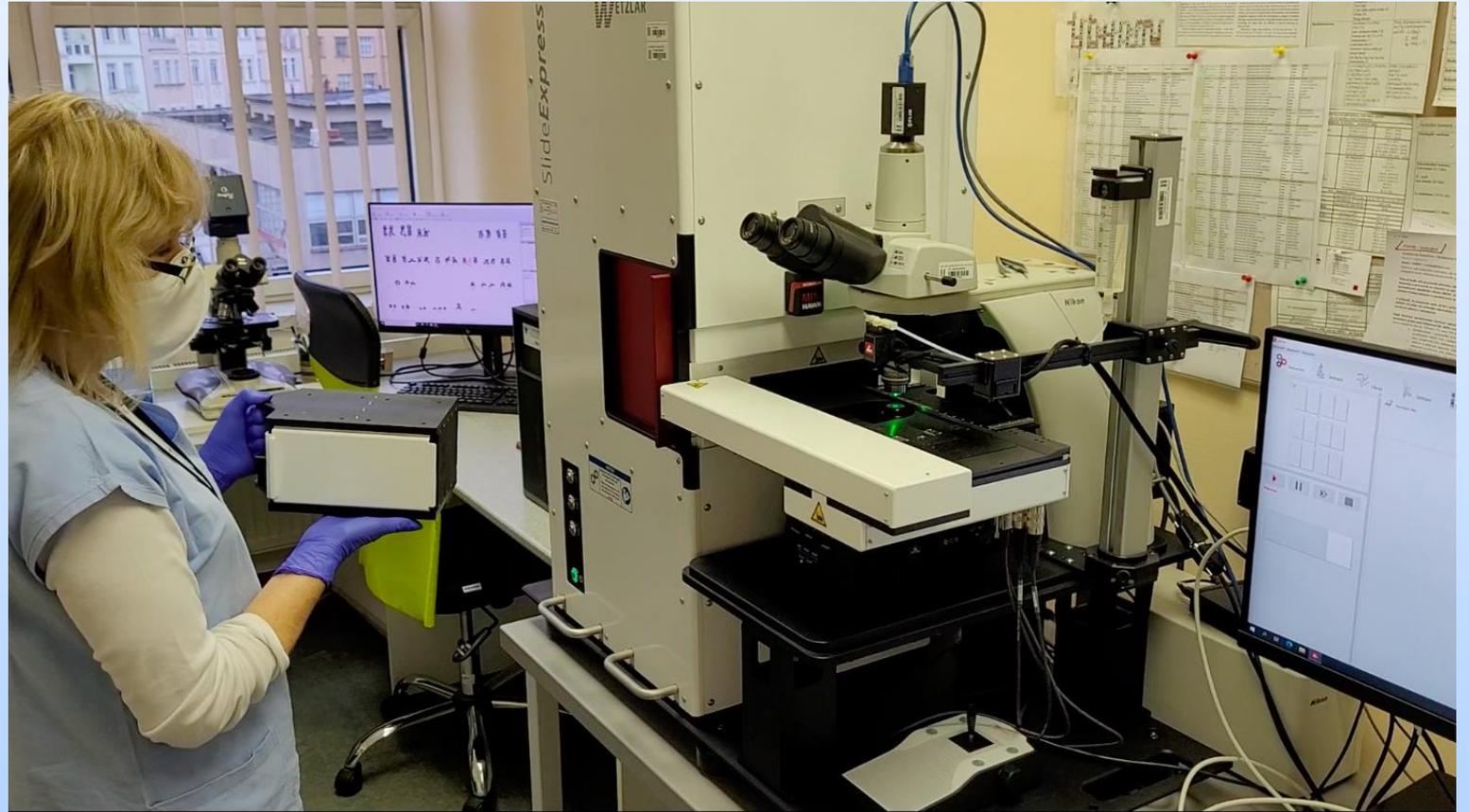
5. PRUHOVÁNÍ / BARVENÍ CHROMOSOMŮ (G-PRUHOVÁNÍ)

- 2% trypsin v Sörensenově fosfátovém pufru
- odmytí v Sörensenově fosfátovém pufru
- barvení v barvivu Giemsa-Romanowski
- oplach ve vodě



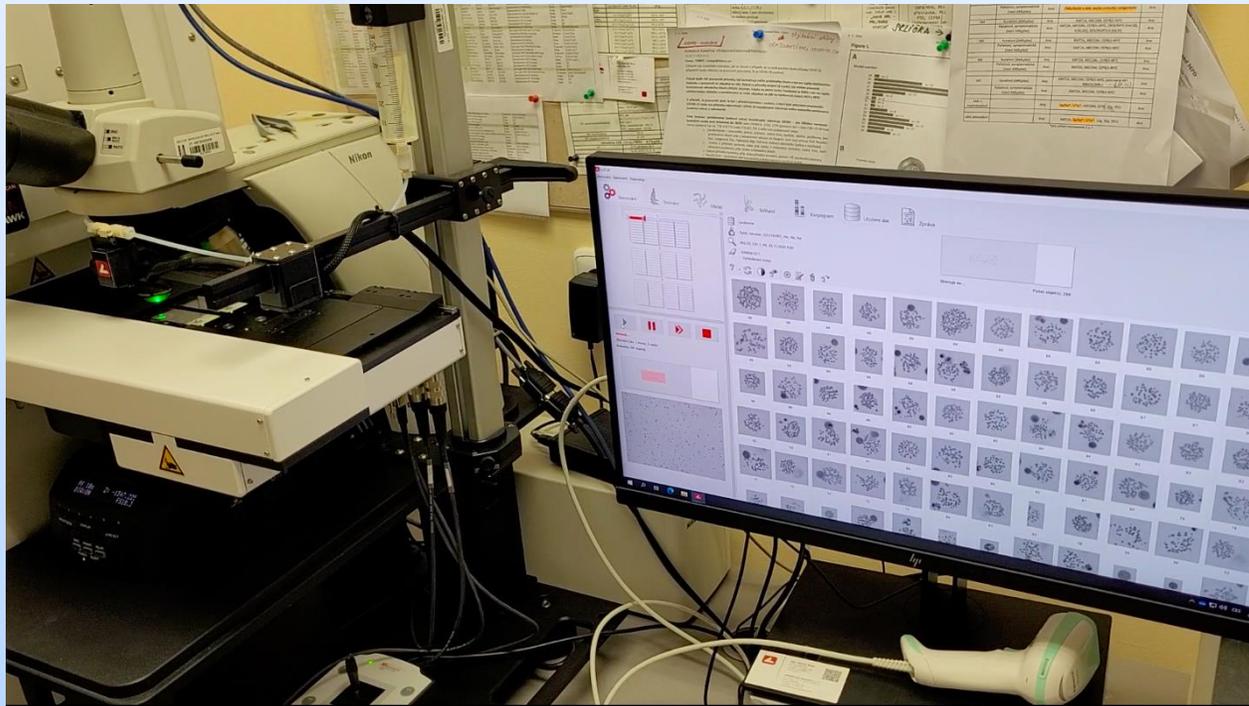
6. VYHLEDÁVÁNÍ METAFÁZÍ

- vyhledání metafází přístrojem LUCIA Metaphase Finder
- snímá cca 6 skl, z každého skla snímá 20 obrazů pod zvětšením 100x



Vlastní zpracování – FN Brno

6. VYHLEDÁVÁNÍ METAFÁZÍ



Vlastní zpracování – FN Brno



Vlastní zpracování – FN Brno

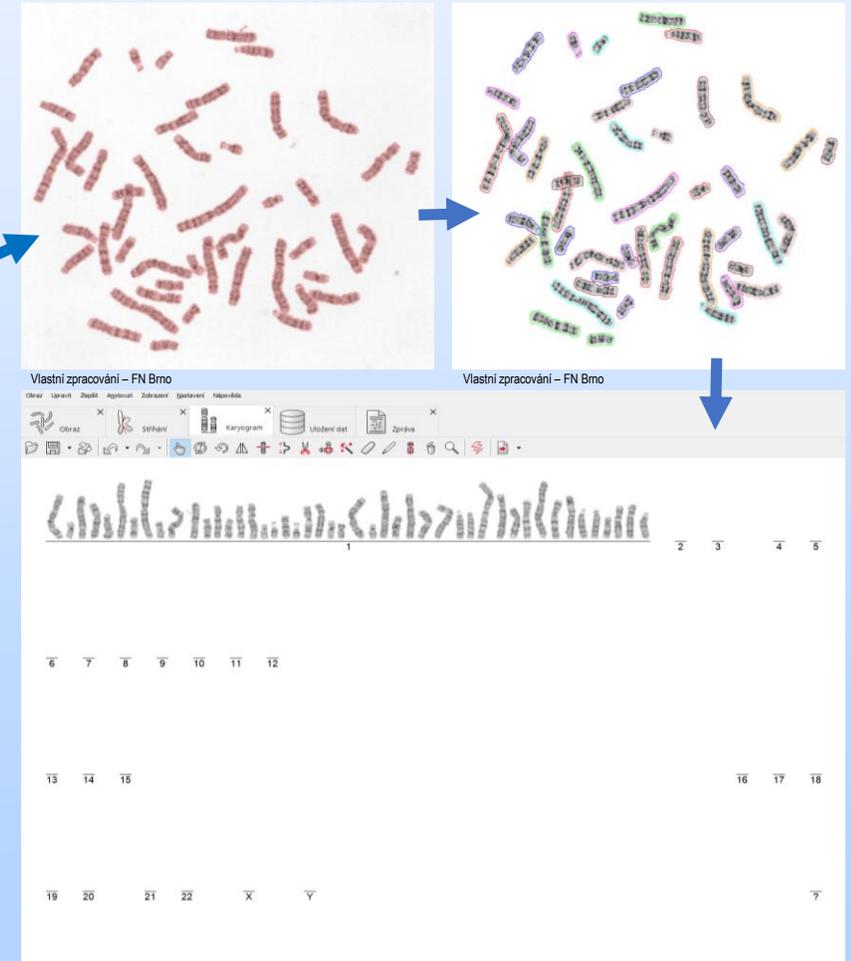
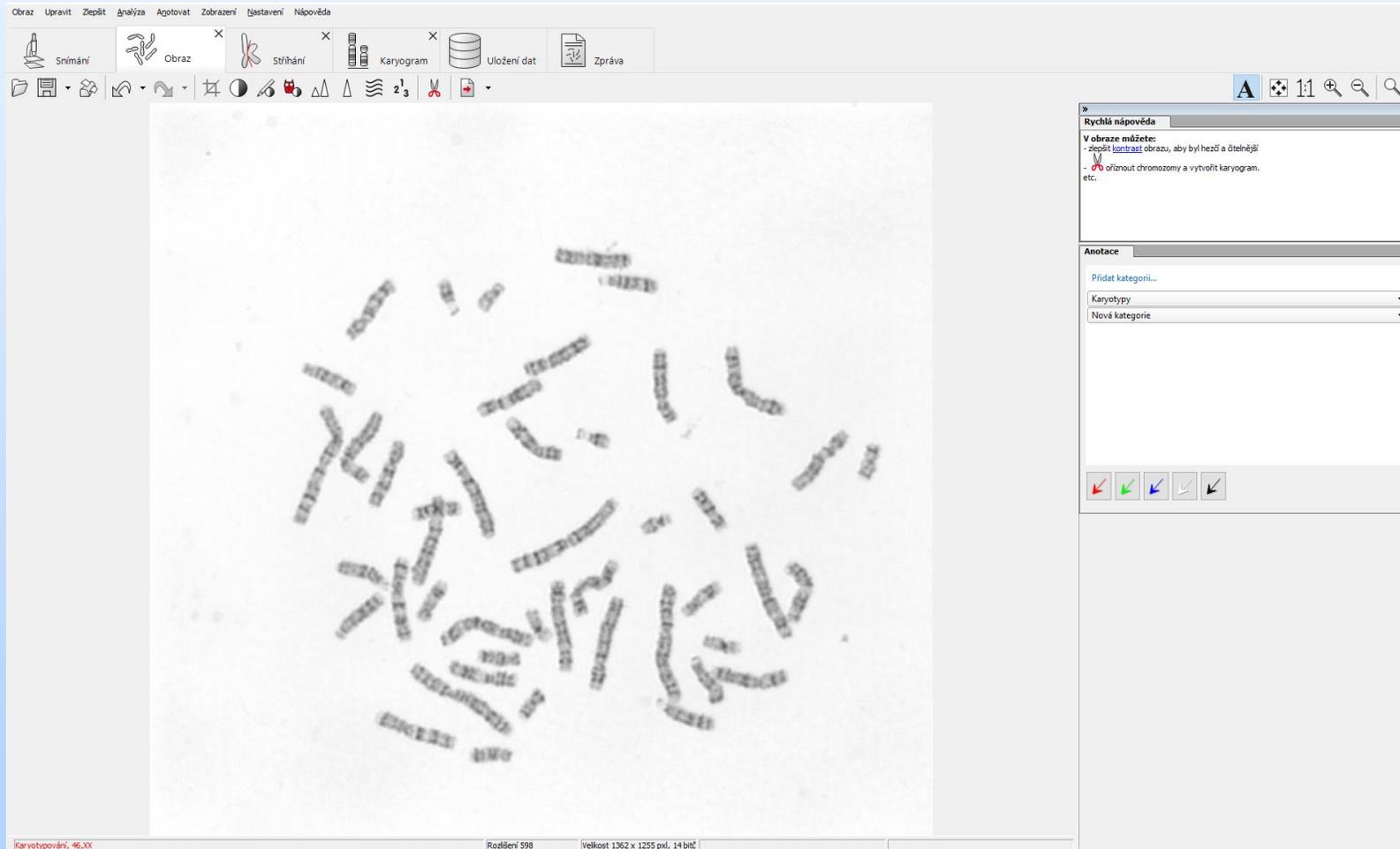
7. HODNOCENÍ

- cílem analýzy je sestavení karyotypu a jeho zápis podle mezinárodní cytogenetické nomenklatury ISCN 2020
- hodnotí se celkem 20 metafází
- každý pacient je vždy hodnocen minimálně 2 pracovníky
- karyotyp se sestavuje a hodnotí pomocí softwaru LUCIA Karyo
- výsledek uvolňuje VŠ pracovník s atestací



7. HODNOCENÍ

- nasnímané metafázické chromosomy se v systému Lucia od sebe oddělí, seřadí a hodnotí



7. HODNOCENÍ - sledují se numerické a strukturní aberace

Karyogram

Snímání Obrázek Stříhání Karyogram Uložení dat Zpráva

1 2 3 4 5

6 7 8 9 10 11 12

13 14 15 16 17 18

19 20 21 22 X Y ?

ISCN: 46,XX

Rychlá nápověda

- Táhněte chromozom na jiné místo, nebo jej určete kliknutím k použití dalších funkcí.
- Plynule otáčejte chromozomem.
- Zdvovjím kliknutím na chromozom ho otočíte o 180 stupňů.

Pokud jsou zapnuty anotace, můžete také použít:

Náhled

Anotace

Přidat kategorii...

Karyotypy

Nová kategorie

Úložiště objektů

Karyotypování, 46,XX Rozlišení 598 Velikost 1362 x 1255 pxl, 14 bitů

7. HODNOCENÍ

- po zhodnocení se vytvoří závěrečná zpráva cytogenetického vyšetření
- výsledek je vydán v papírové a elektronické podobě – AMIS (FN Brno)

 FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO	 Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno a LF MU	 M 8213	S/CMBG/00008 Interní hematologická a onkologická klinika Předseda kliniky: prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc. Centrum molekulární biologie a genetiky Sekce cytogenetiky Pracovní skupina nádorové cytogenetiky Tel.: 532 23 4232 / 4714 / 4119 / 4541 Zdravotnická laboratoř č. 8213 akreditovaná ČIA dle ČSN EN ISO 15 189:2013
Fakultní nemocnice Brno, pracoviště Dětská nemocnice, Černopolská 212/9, 613 00 Brno Korespondenční adresa: Fakultní nemocnice Brno, Jihlavská 340/20, 625 00 Brno IČO: 652 69 705, DIČ: CZ 652 69 705, Bankovní spojení: 712 346 210710 www.fnbrno.cz, Nositel certifikátu ISO 14001:2015			
Výsledek cytogenetického vyšetření SA/CMBG/C0001			
Jméno: Novák Jan			
Číslo pojištěnce: XXXXXXXXXXXXX	Klinická Dg.: C91.1	Materiál: PK	
Číslo případu: 1/20	ZP: 111	Kultivace: 72 hod.	
Odebral: MUDr. Sedlák	Odbornost: 202	IČP: 72100377	
Datum odběru: 1.10.2020 10:30	Přijem do laboratoře: 1.10.2020 13:30		
Adresa Žadatele Fakultní nemocnice Brno, Interní hematologická a onkologická klinika, ambulance hematologická, Jihlavská 20, 625 00 Brno			
Výsledek cytogenetického vyšetření:			
Počet karyotypovaných a dokumentovaných metafází: 20			
ISCN karyotyp:			
46,XY[20]			
Komentář:			
Cytogenetickým vyšetřením byl určen normální karyotyp.			
ISCN FISH:			
nuc ish(ATM,TP53)x2[200] nuc ish(DLEU1/MIR15A/MIR16-1,LAMP1,D12Z3)x2[200] nuc ish(SEC63,CMYC)x2[200]			
Komentář:			
ATM, TP53, 13q14, CEP12, 6q21, 8q24: normální nález			
vzor			
Informovaný souhlas je uložen v dokumentaci pacienta.			
Datum a čas	16.10.2020 7:25:10	Uvolnil:	MVDr. Šmuhařová Petra
Zhotovi:	Mgr. Šejnohová Markéta, MVDr. Šmuhařová Petra		
2-249/11/0 Dokument je důležitou informací FN Brno. Jeho rozmožňování a šíření informací v něm obsažených mimo FN Brno je zakázáno.			
			Počet stran: 1/1

KAZUISTIKA NEJČASTĚJŠÍCH CHROMOSOMOVÝCH ABNORMALIT U:

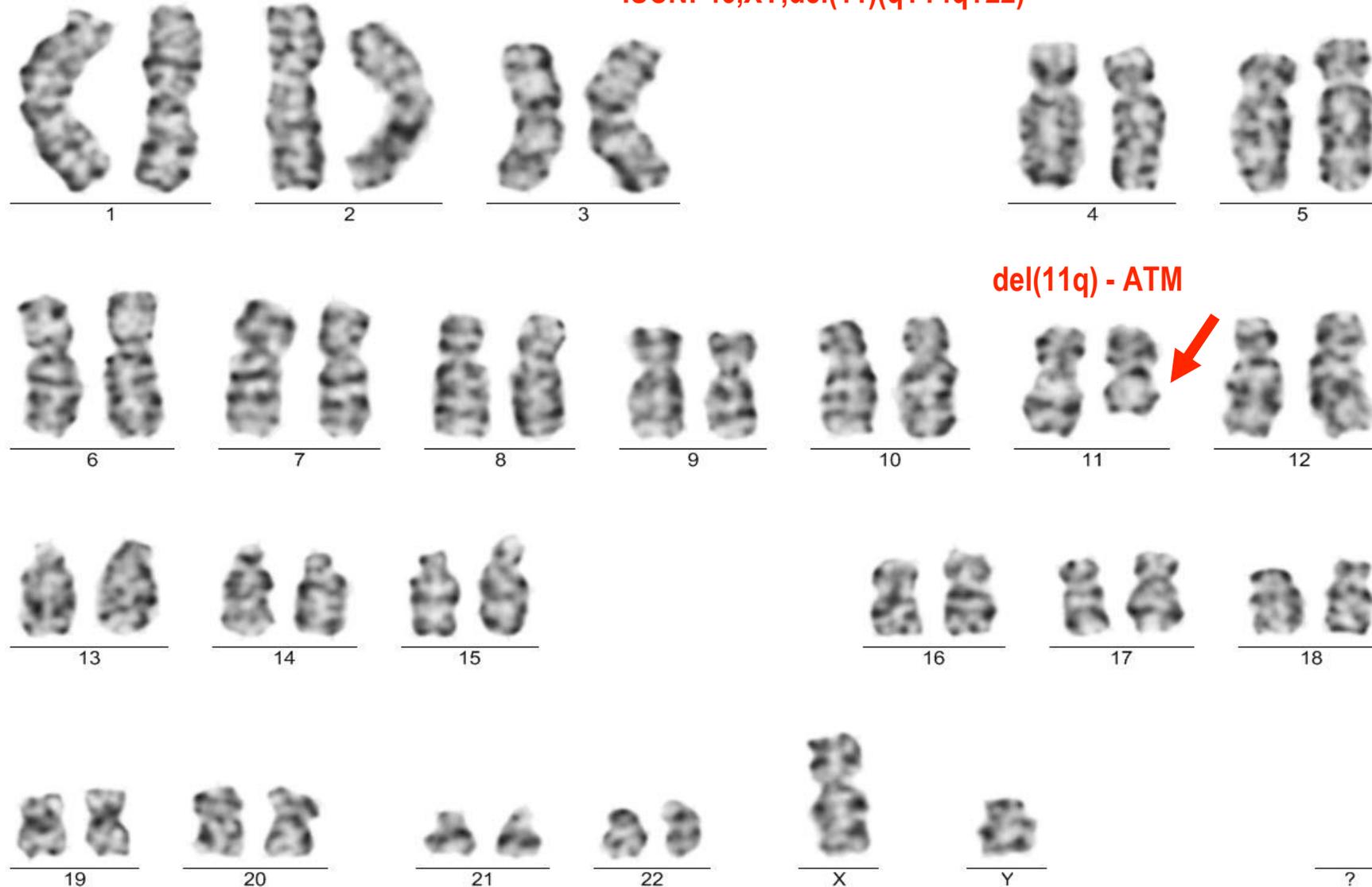
- **CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE - CLL**
- **CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKEMIE - CML**
- **MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM - MDS**

- současně s cytogenetickým vyšetřením se dle diagnózy indikuje FISH vyšetření

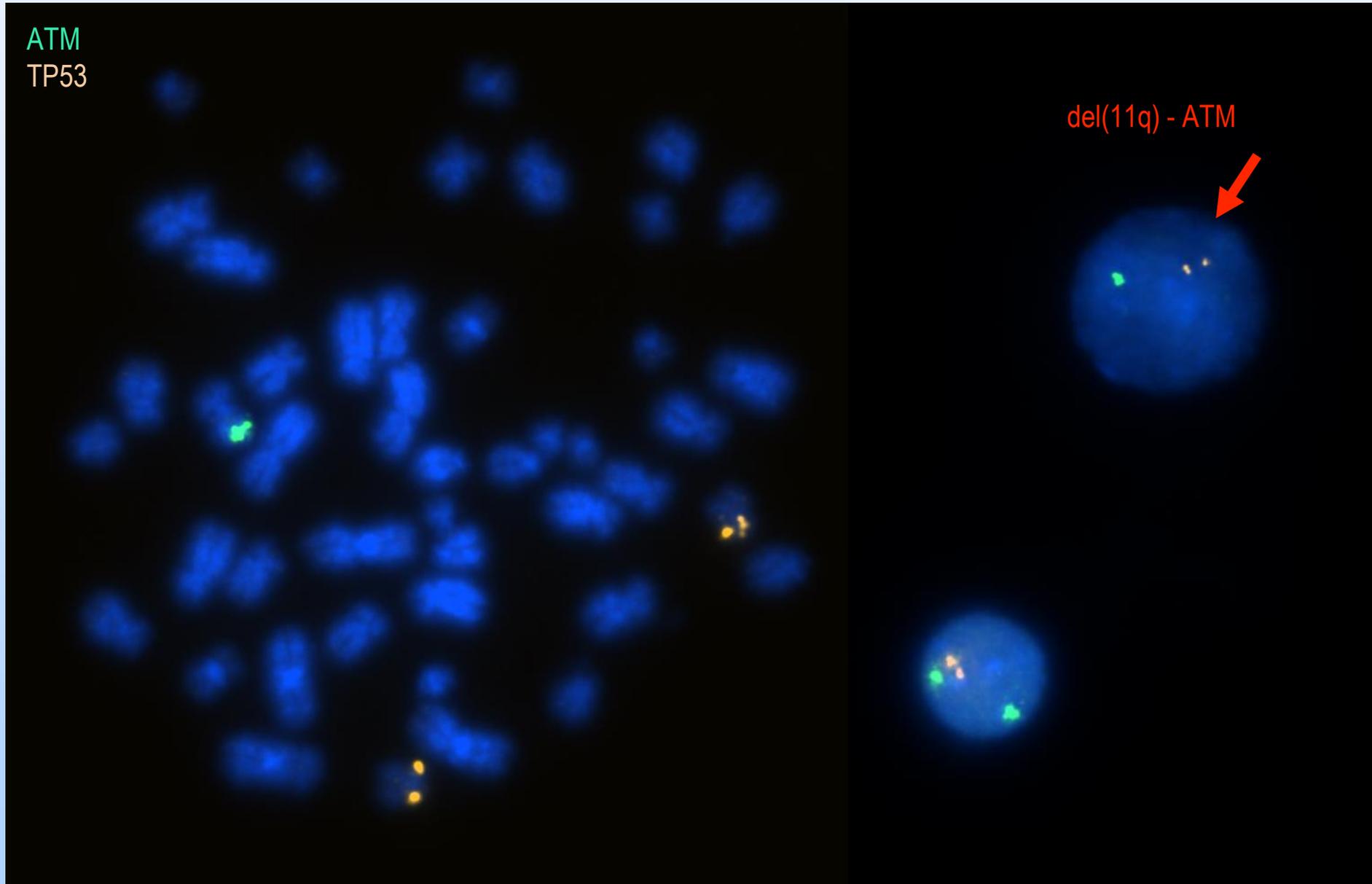
ONEMOCNĚNÍ	FISH panel
CLL – Chronická lymfocytární leukemie	13q14, ATM, TP53, CEP12, del(6q), C-myc
CML – Chronická myeloidní leukemie	t(9;22) – BCR/ABL1
MDS – Myelodysplastický syndrom	del(5q), del(7q), -7, TP53, del(20q), CEP8

NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CLL (cytogenetické vyšetření)

ISCN: 46,XY,del(11)(q?14q?22)

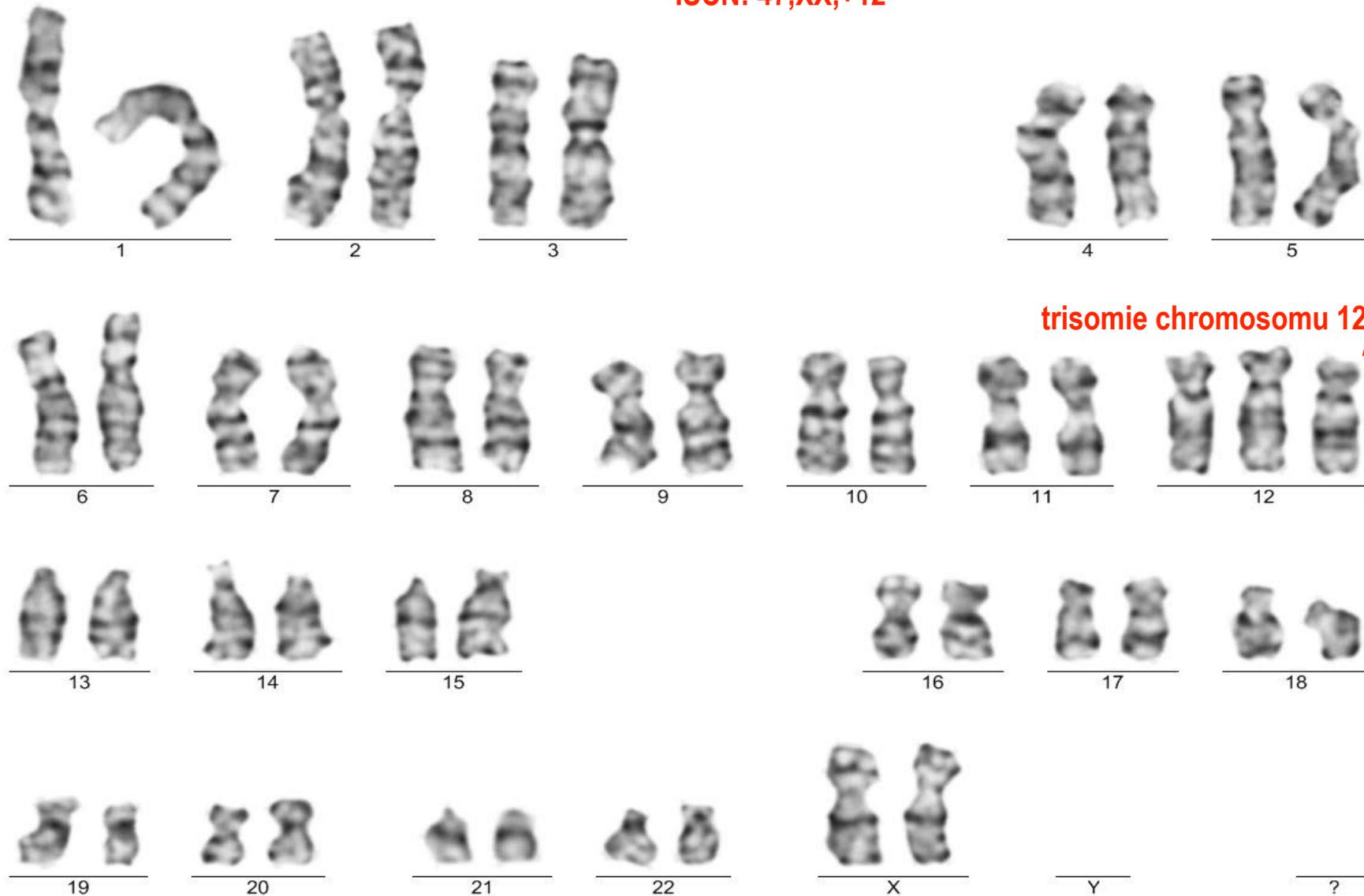


NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CLL (FISH)

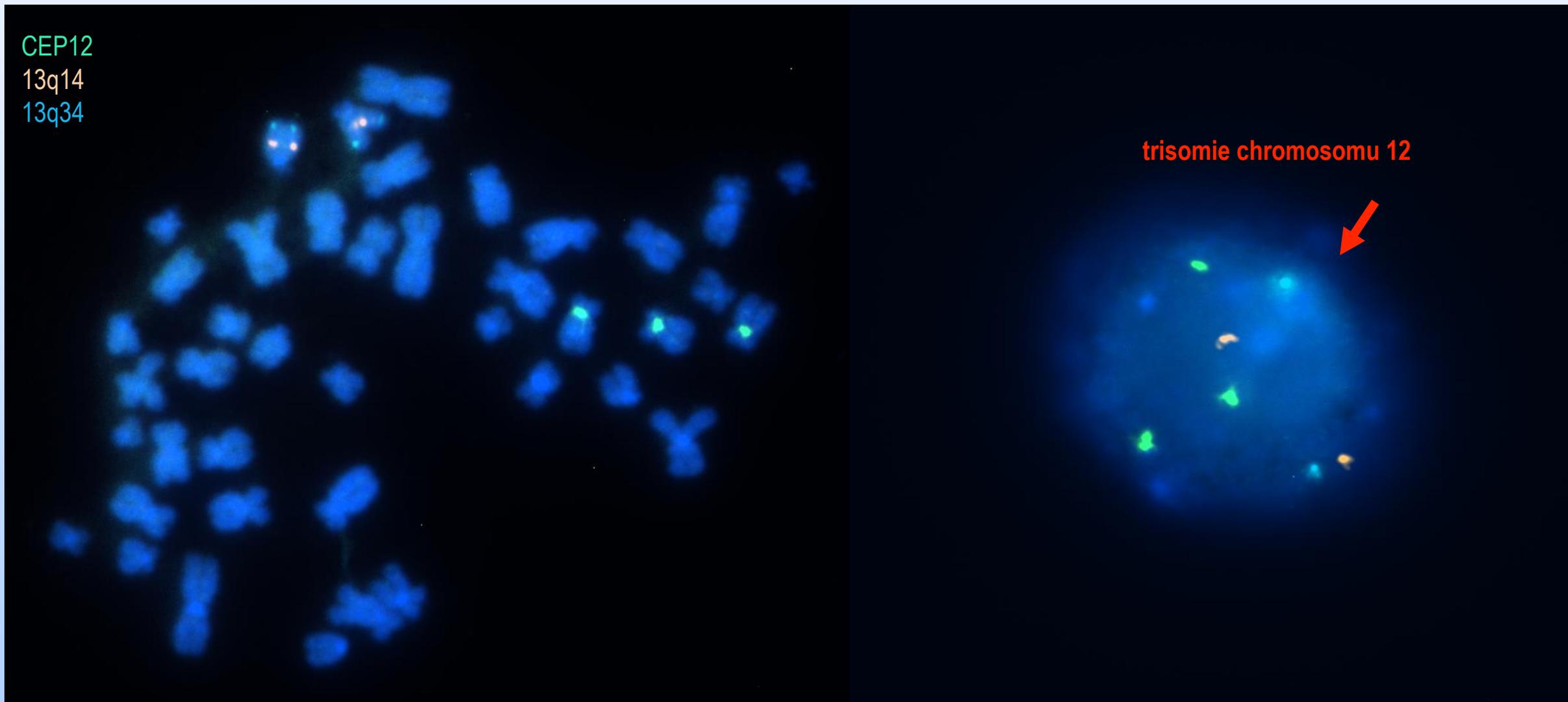


NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CLL (cytogenetické vyšetření)

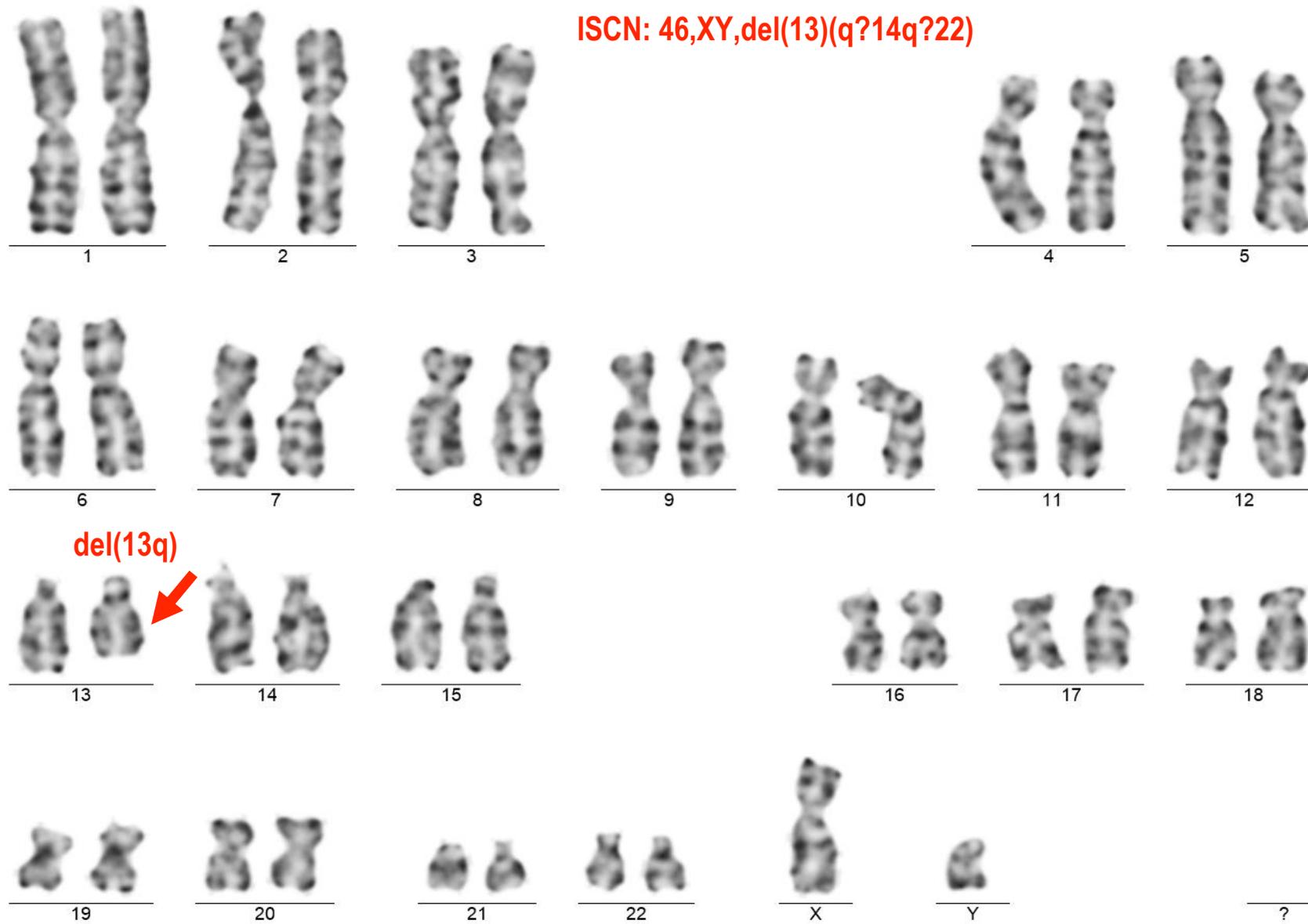
ISCN: 47,XX,+12



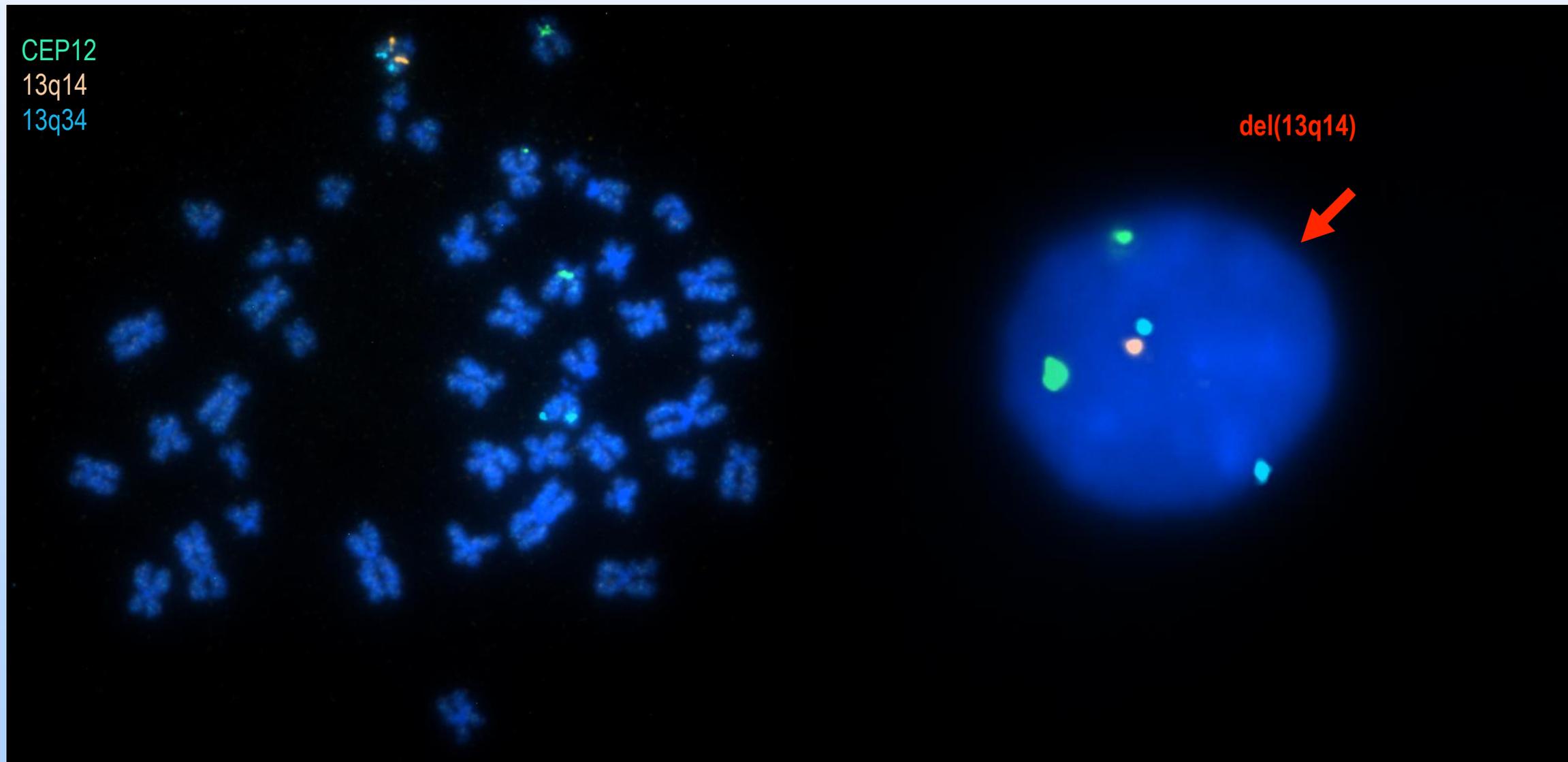
NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CLL (FISH)



NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CLL (cytogenetické vyšetření)



NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CLL (FISH)

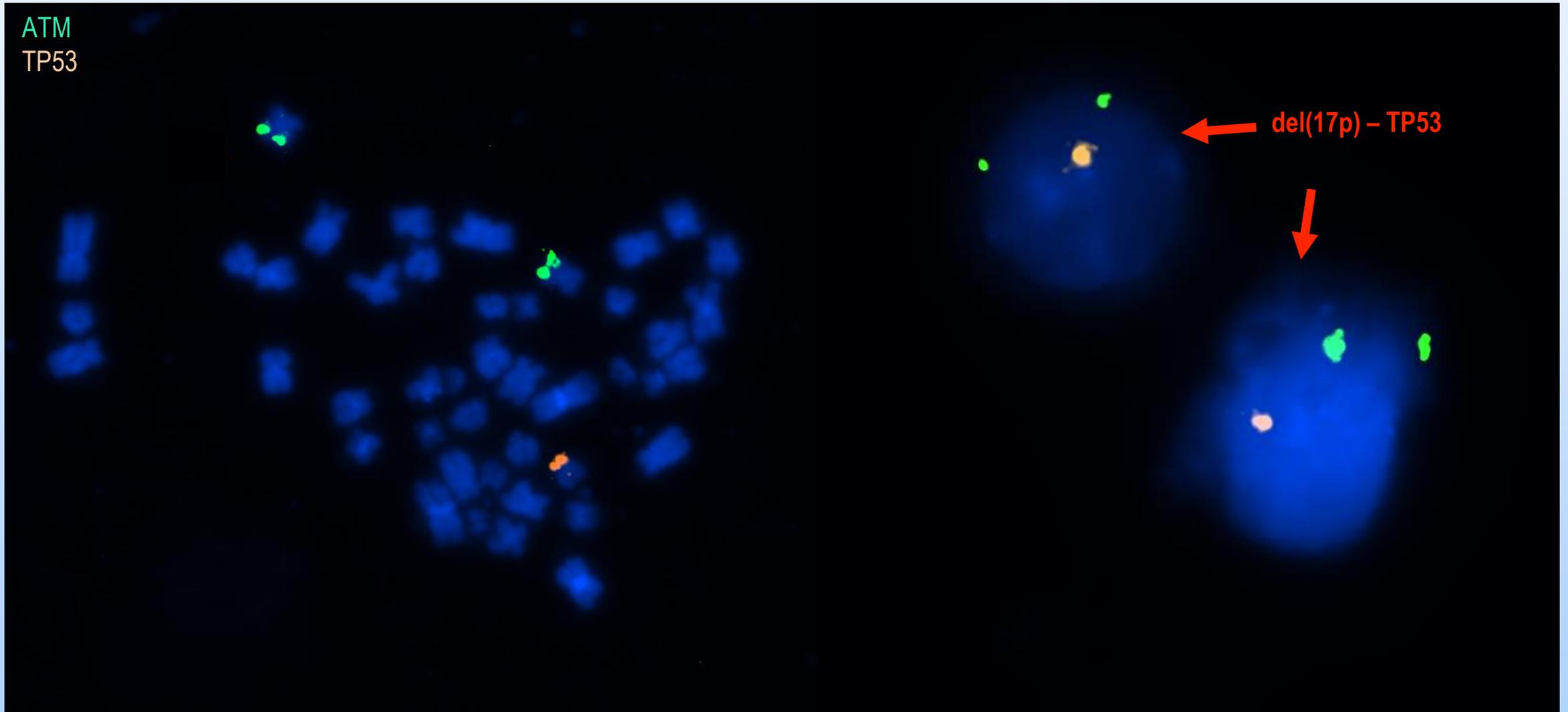


NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CLL (cytogenetické vyšetření)

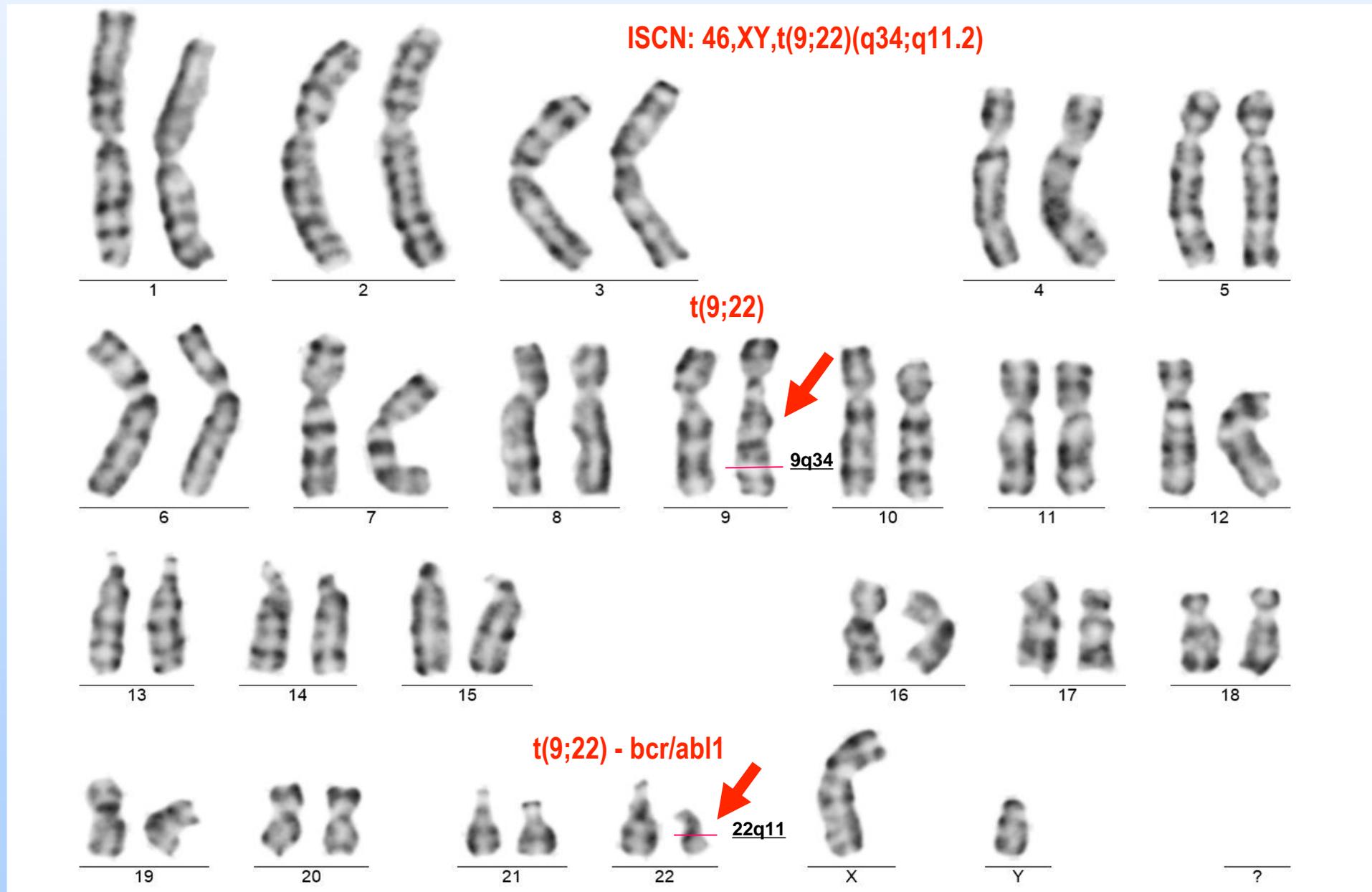
ISCN: 46,XY,del(17)(p?13)



NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CLL (FISH)



NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CML (cytogenetické vyšetření)



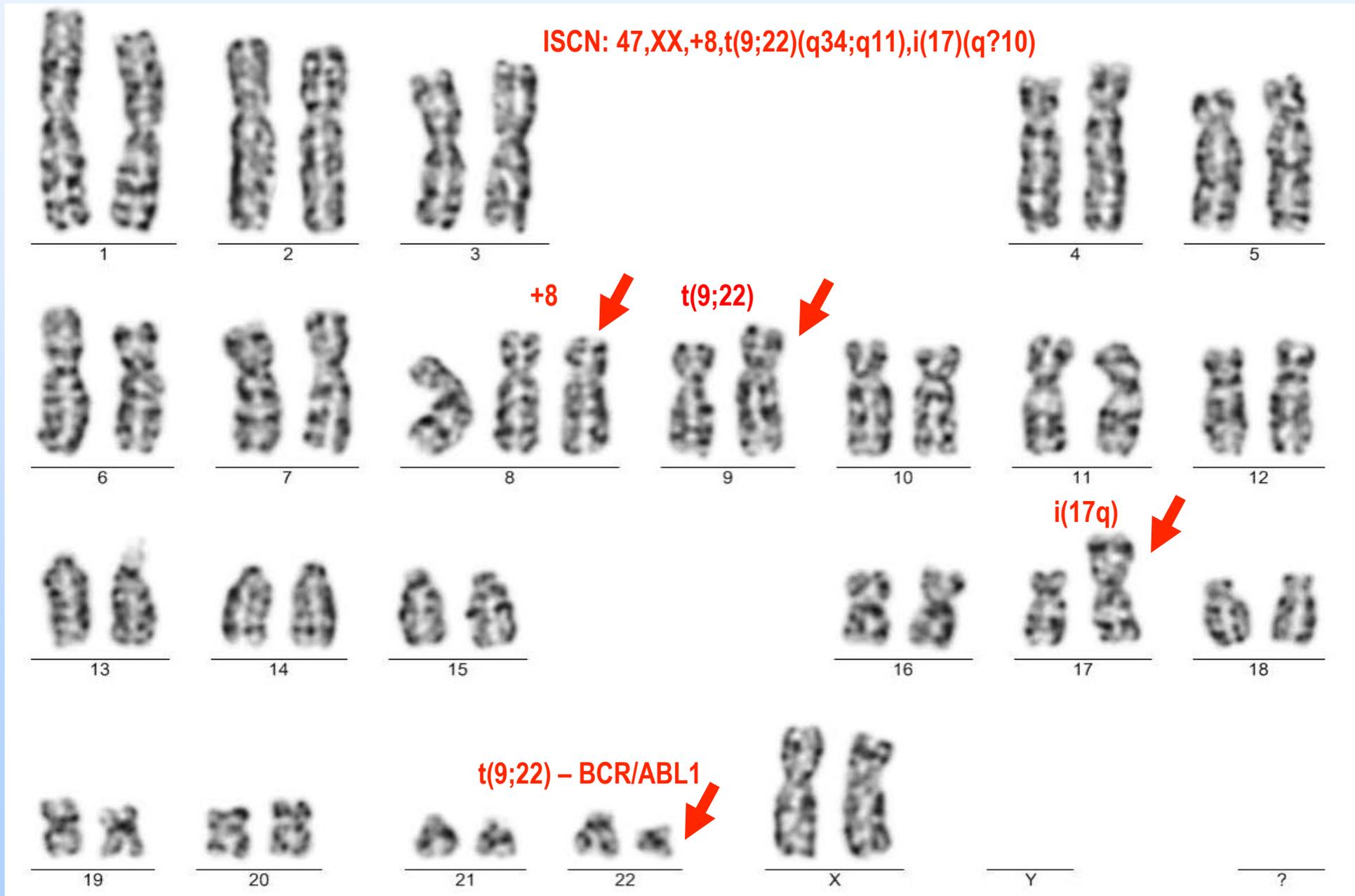
NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CML (FISH)

22q11.2 ABL1
9q34.1 BCR

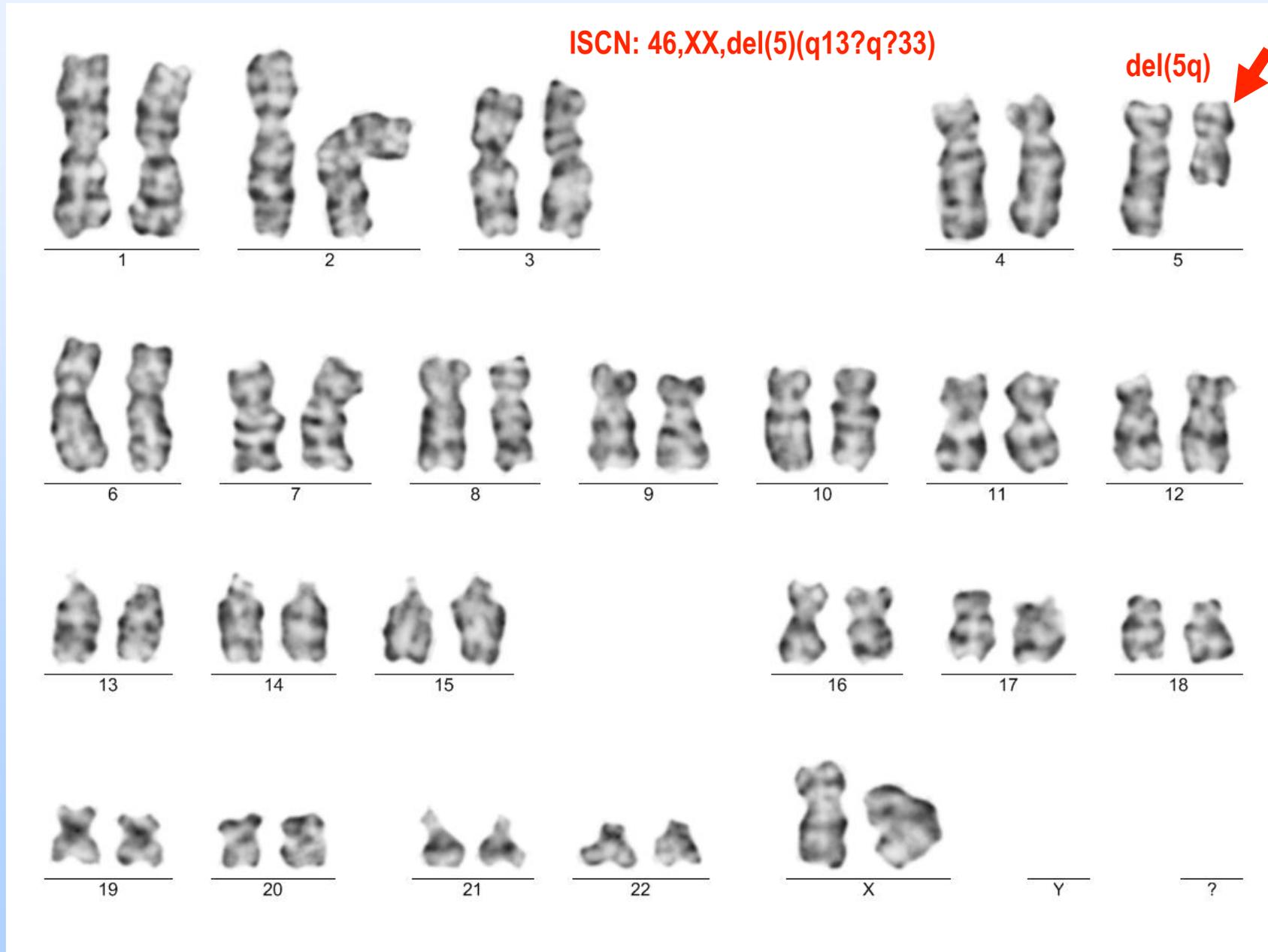
t(9;22) - fúze BCR/ABL1 – vzniká Ph chromosom - Philadelphia chromosome



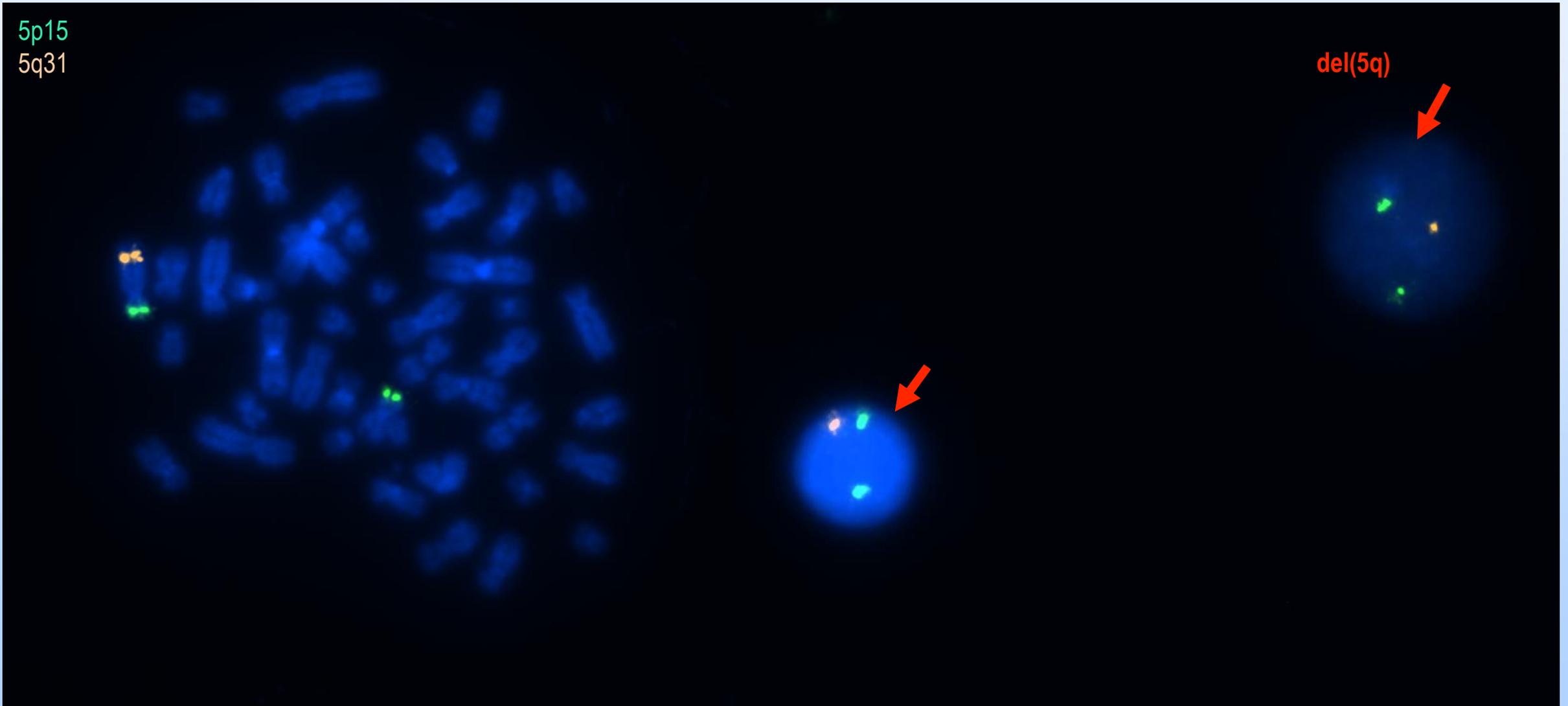
NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - CML (cytogenetické vyšetření)



NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - MDS (cytogenetiké vyšetření)



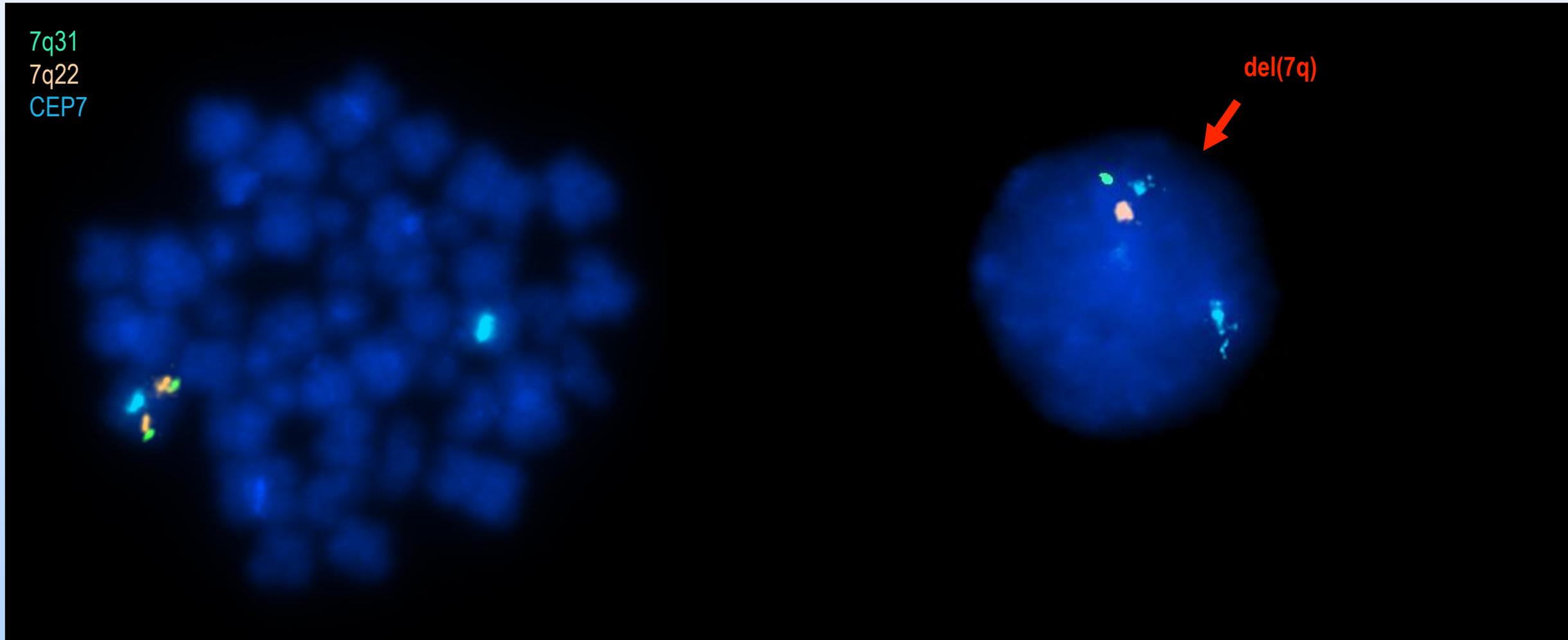
NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - MDS (FISH)



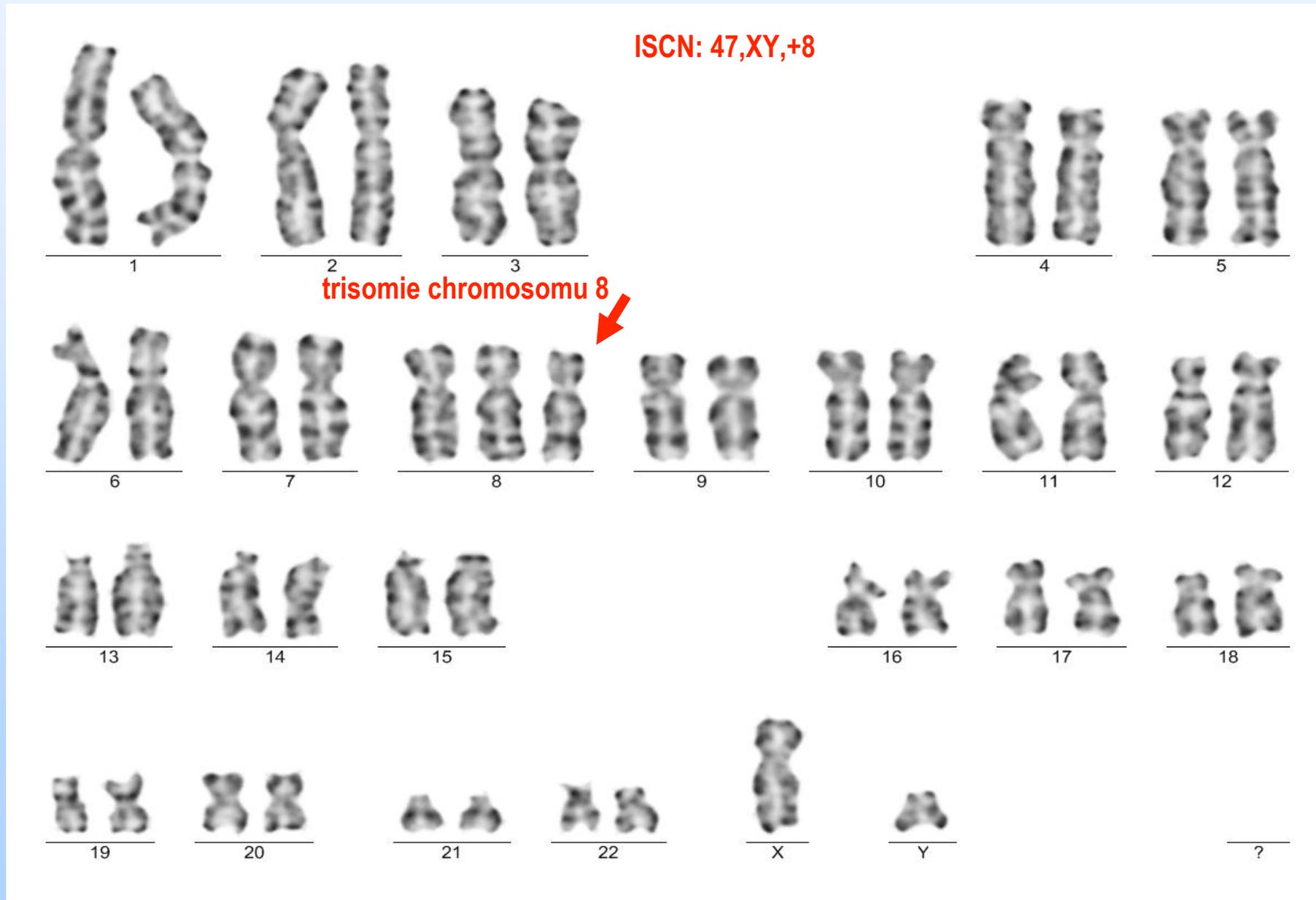
NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - MDS (cytogenetiké vyšetření)



NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - MDS (FISH)

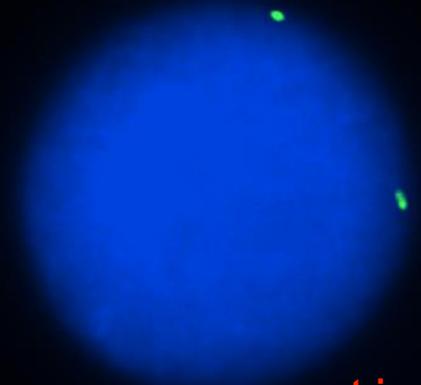
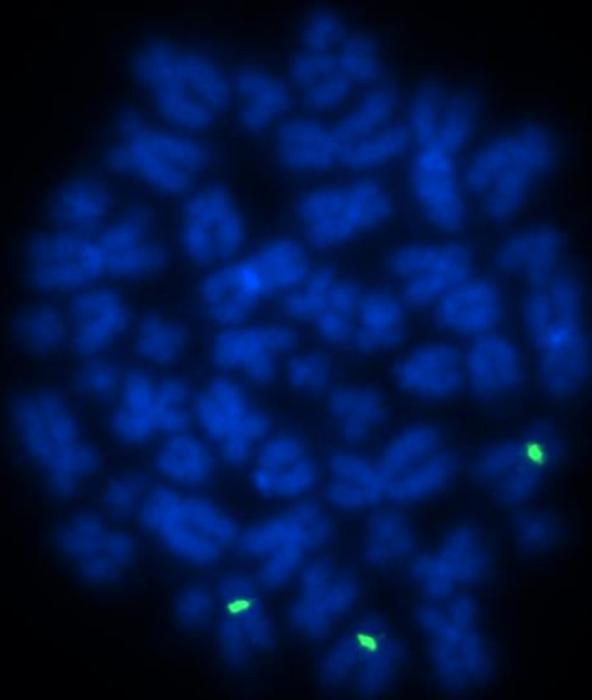


NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - MDS (cytogenetické vyšetření)

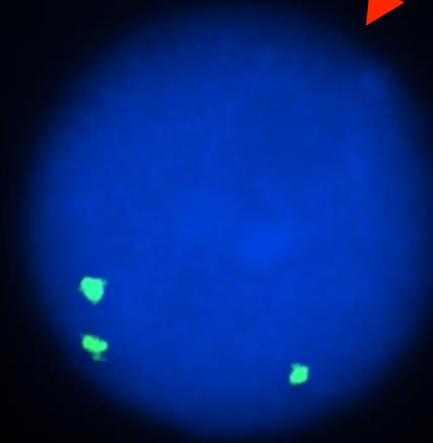


NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - MDS (FISH)

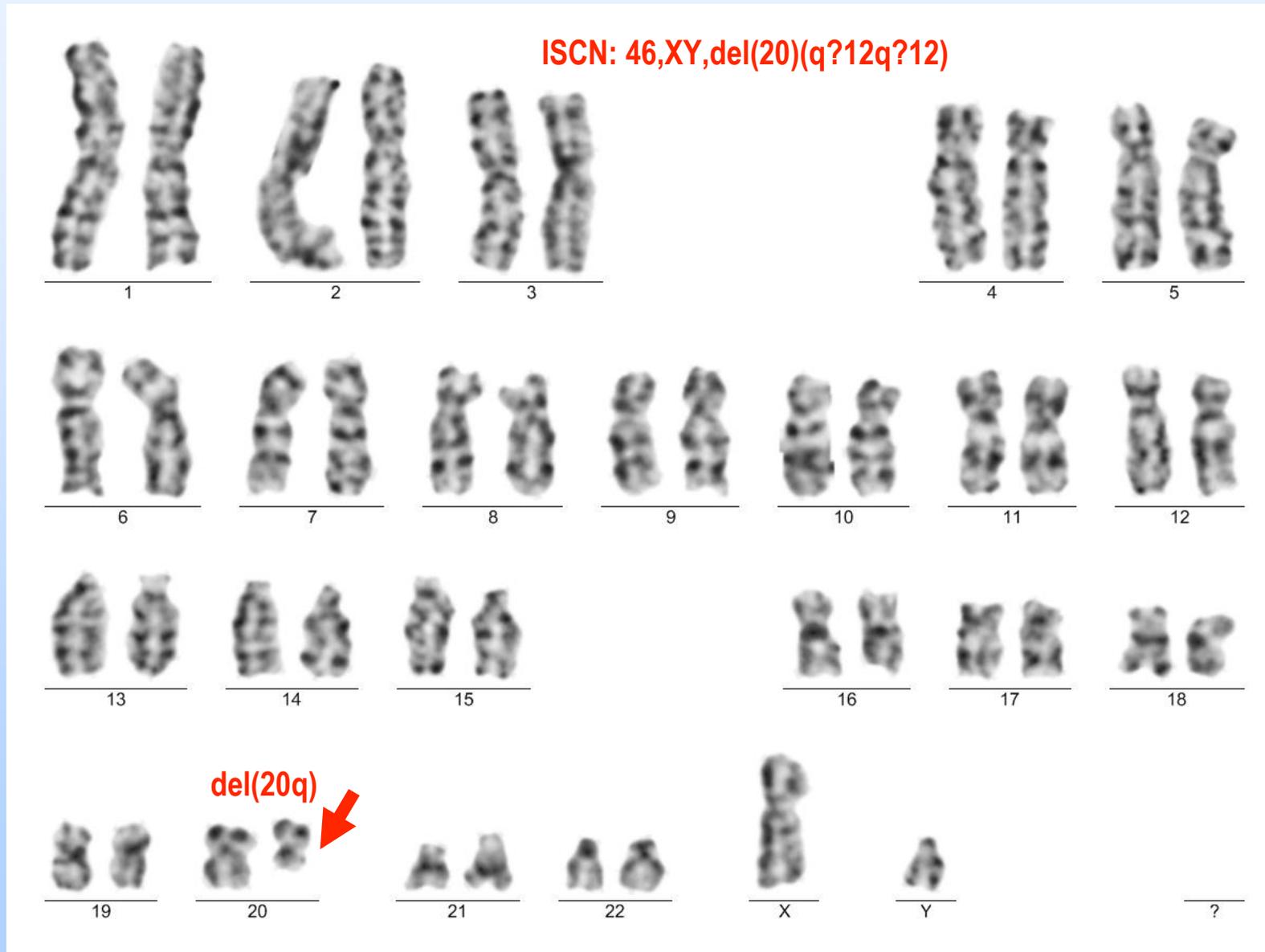
CEP8



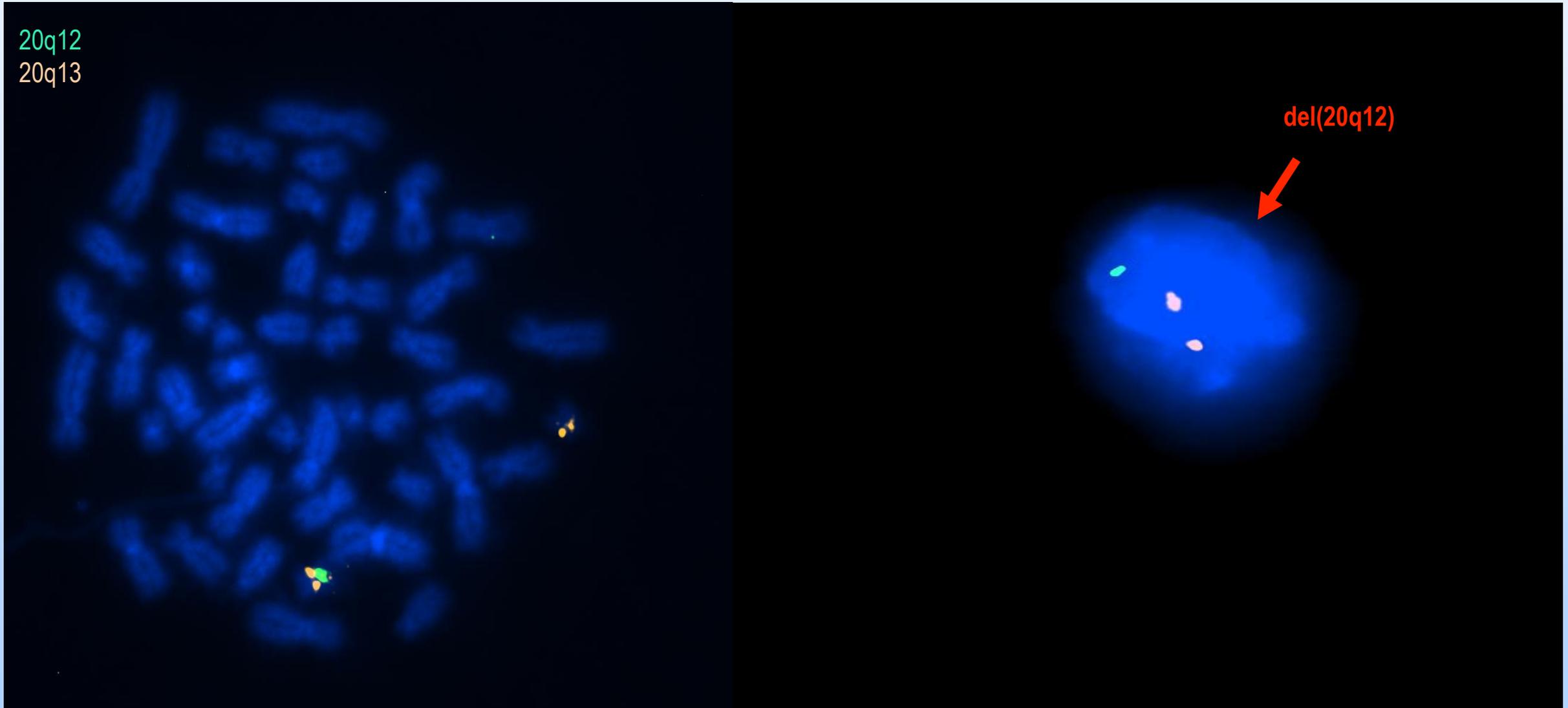
trisomie chromosomu 8



NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - MDS (cytogenetické vyšetření)



NEJČASTĚJŠÍ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY - MDS (FISH)

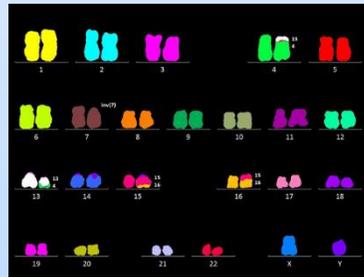


KOMPLEXNÍ KARYOTYP

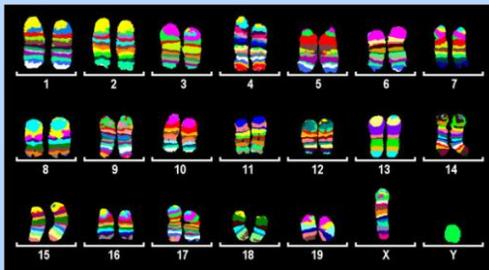
- v případě komplexního karyotypu (3 a více chromosomových aberací, z toho jedna z aberací musí být strukturního charakteru) se může dále indikovat vyšetření

- M-FISH

- M-band



Vlastní zpracování – FN Brno

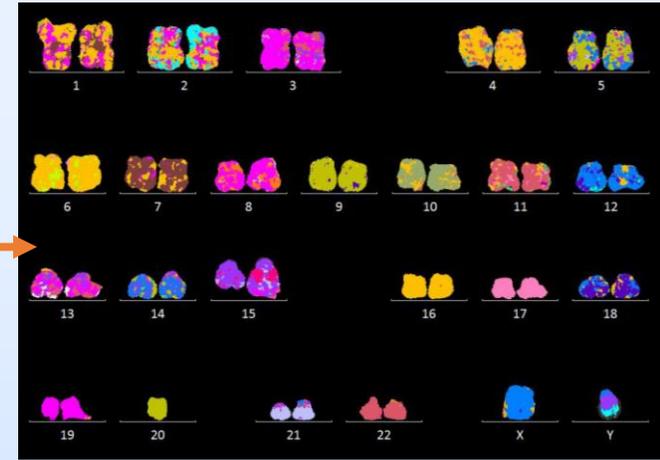


Vlastní zpracování – FN Brno



Vlastní zpracování – FN Brno

ISCN: 46,XY,der(15)t(3;15)(q?;q?26.1)

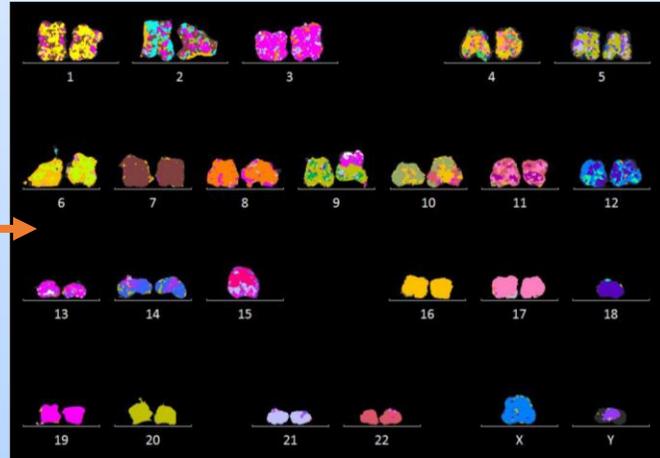


Vlastní zpracování – FN Brno



Vlastní zpracování – FN Brno

ISCN: 46,XY,der(15)t(3;15)(q?;q26.1)[10]/44,XY,der(9)t(9;13)(p?;q?),der(10)ins(10;?),-15,der(15)t(3;15)(q?;q26.1),+18[2]/46,XY,?der(2)t(2;16)(q?;?),der(15)t(3;15)(q?;q26.1)[1]/46,XY,der(5)t(5;13)(q23.3;q?),der(12)(12pter->12q21.1::15q?->15q?:3?->3?),der(13)t(13;17)(q31;q?21.2),der(15)t(14;15)(?;q24)[1]/46,XY[1]



Vlastní zpracování – FN Brno

DĚKUJI ZA POZORNOST

