

KLINICKÁ CYTOGENETIKA SEMINÁŘ

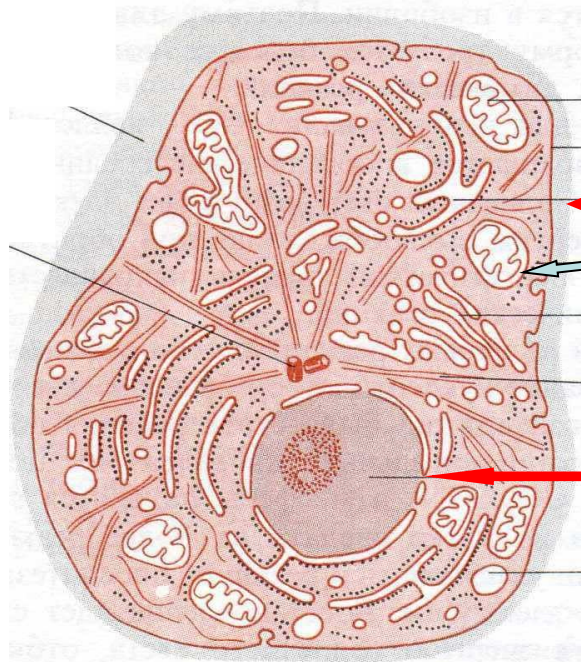
Mgr. Hanáková



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



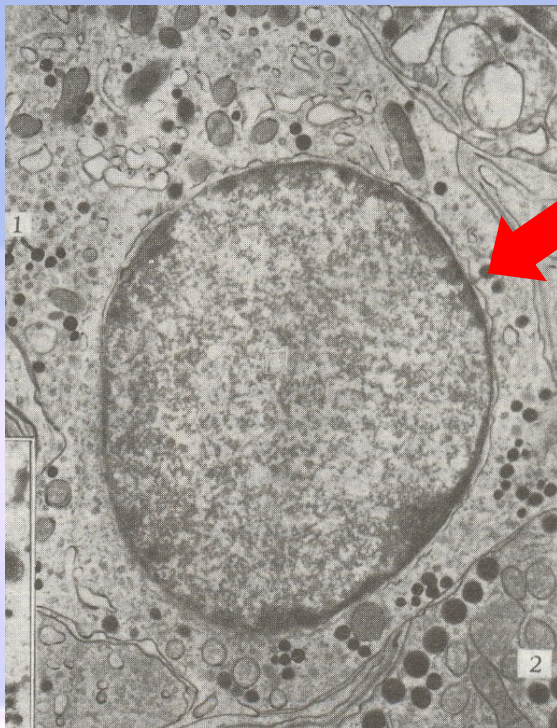
SCHEMA LIDSKÉ BUŇKY



cytoplasma s organelami
(DNA je v mitochondriích)

buněčné jádro
(DNA + proteiny, RNA)

ZMĚNA ORGANIZACE GENETICKÉHO MATERIÁLU BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU SOMATICKÝCH BUNĚK



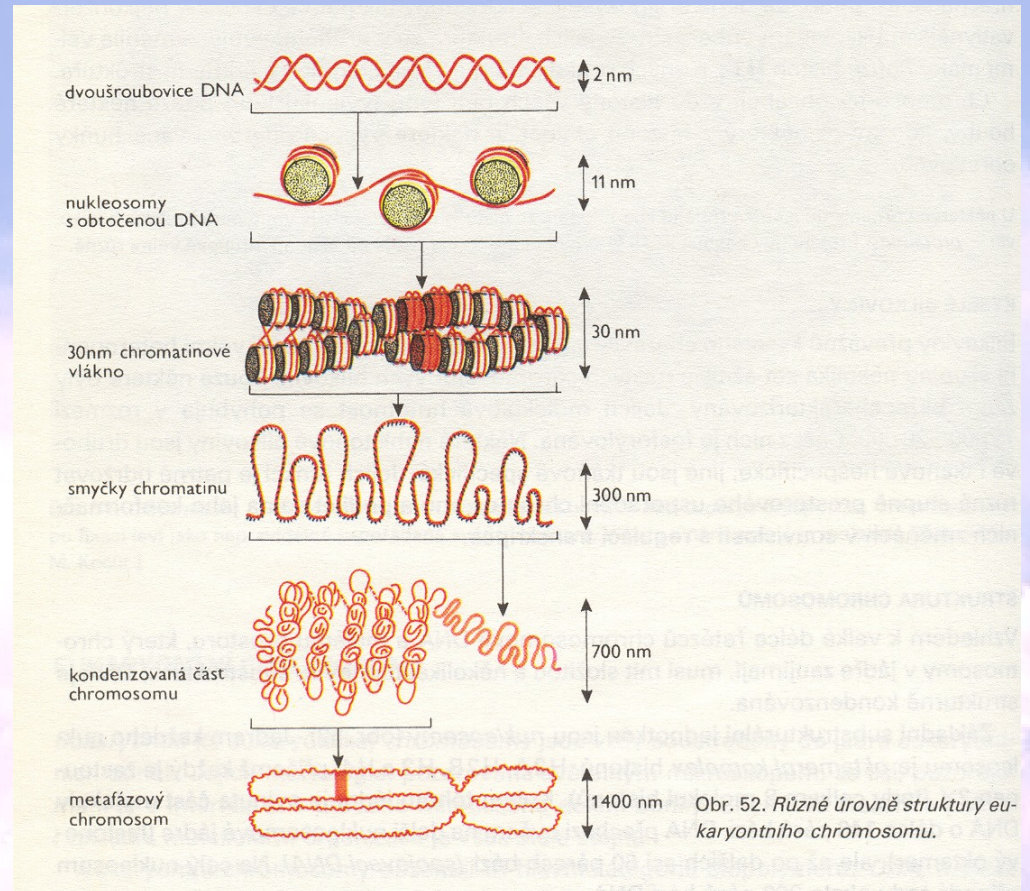
**jádro v interfázi –
despiralizované molekuly DNA
(různé stupně spiralizace)**



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

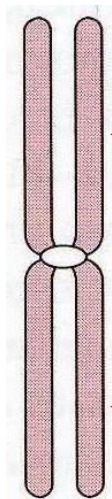
SPIRALIZACE CHROMOSOMŮ

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 →

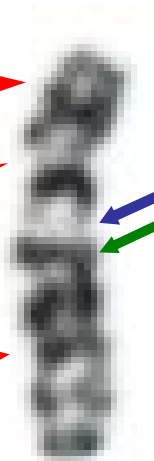
← centromera →

← q - dlouhá raménka →

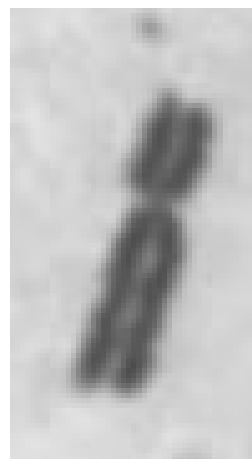


sesterské chromatidy
(identické kopie)

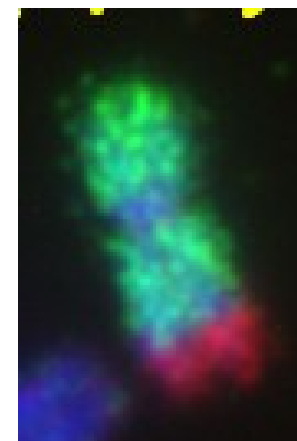
chromosom s G- pruhy



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

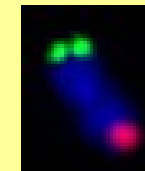
- **vyšetření chromosomů, interfázních jader i izolované DNA**

- 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),
interfázní jádro (vpravo)

- **vyšetření izolované DNA**

- metody molekulární genetiky

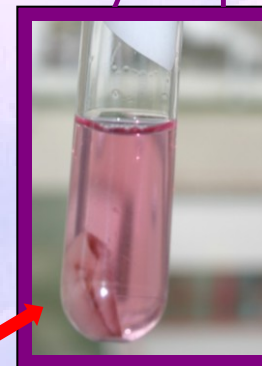
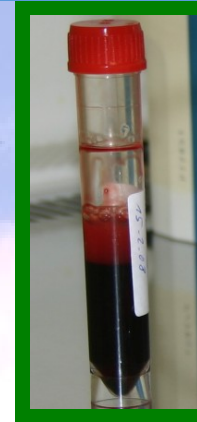
rozlišovací schopnost nejvyšší (rozdíly v sekvenci DNA)



dvoušroubovice DNA

VSTUPNÍ MATERIÁLY K VYŠETŘENÍ

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



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

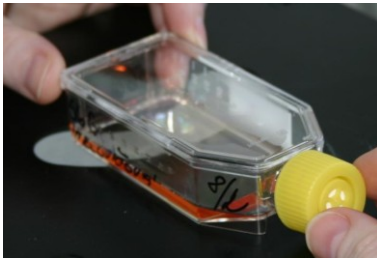


METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

kultivace materiálu



nasazení periferní krve



nasazení plodové vody

1



kultivace v termostatu

2



aplikace kolchicinu – mitotického jedu
po kultivaci

3

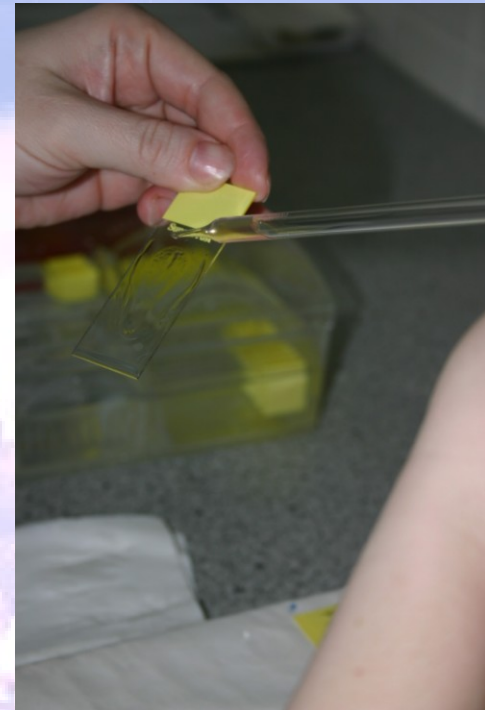
METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY zpracování suspenze

- hypotonizace, fixace – získání suspenze jader



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

- vykapání suspenze jader na podložní sklíčka



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

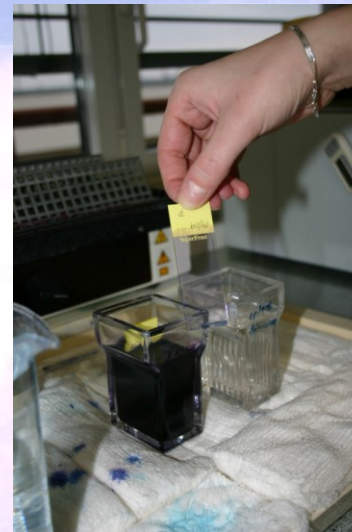
G -pruhování chromosomů

- 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

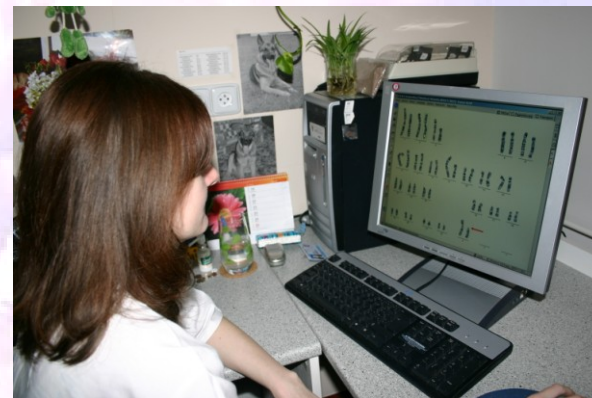
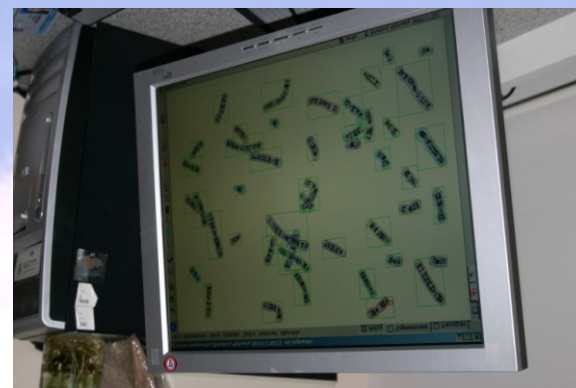


METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

hodnocení

ke třídění chromosomů a sestavení karyotypu lze využít počítačové analýzy obrazu

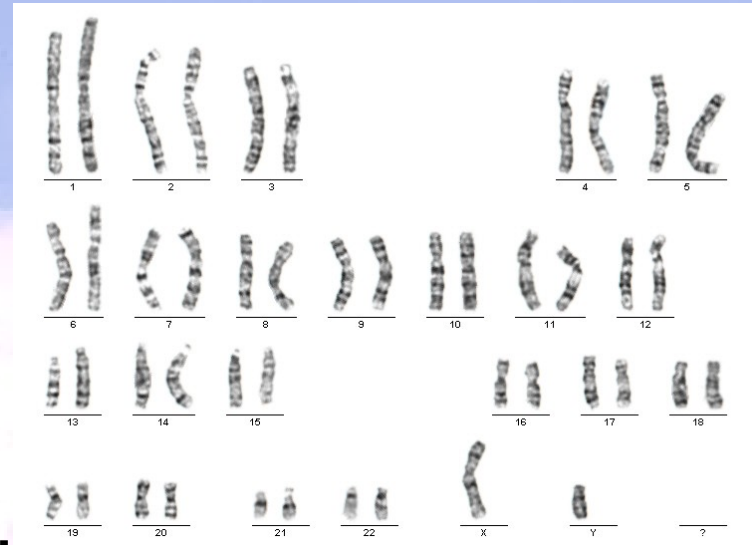
světelný mikroskop
s CCD kamerou
napojený na počítač



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)

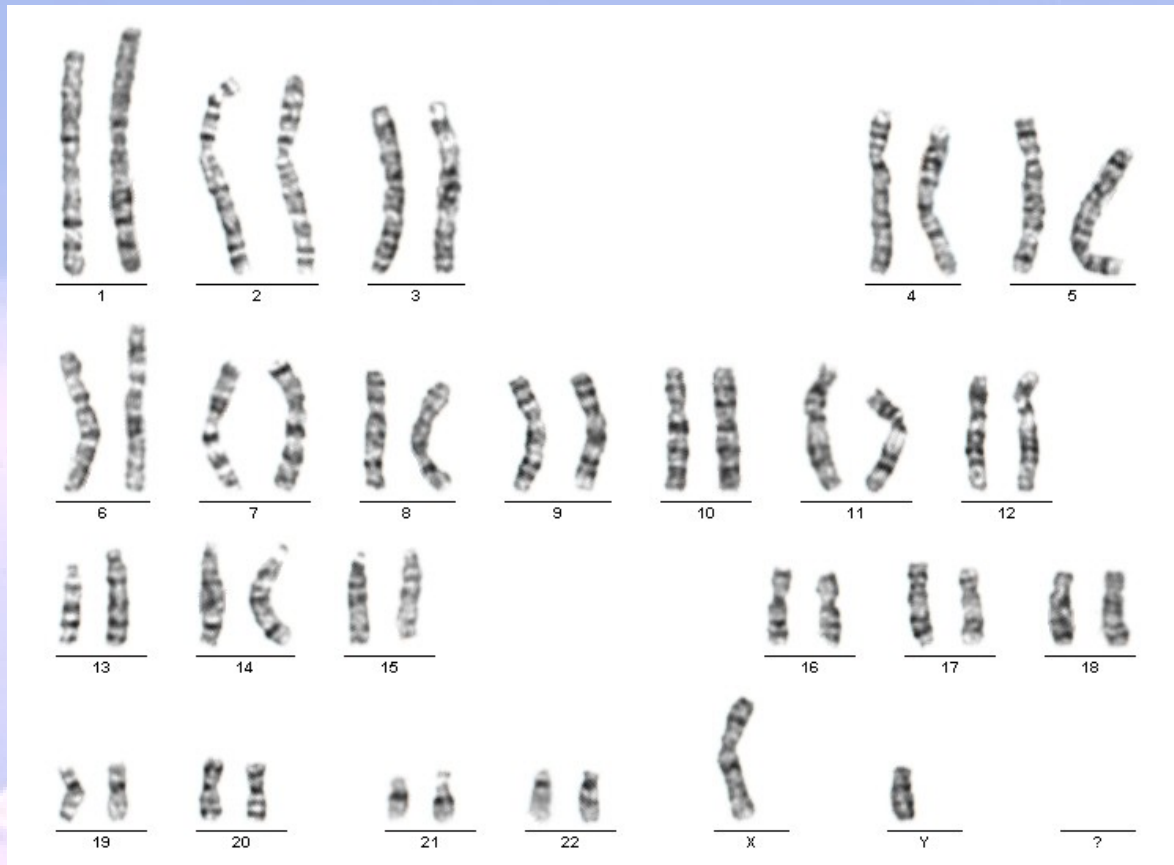


obrázek = utříděný soubor chromosomů jednoho jádra, který vypovídá o chromosomech i v ostatních buňkách pacienta

CHROMOSOMY V PRAXI

normální mužský karyotyp

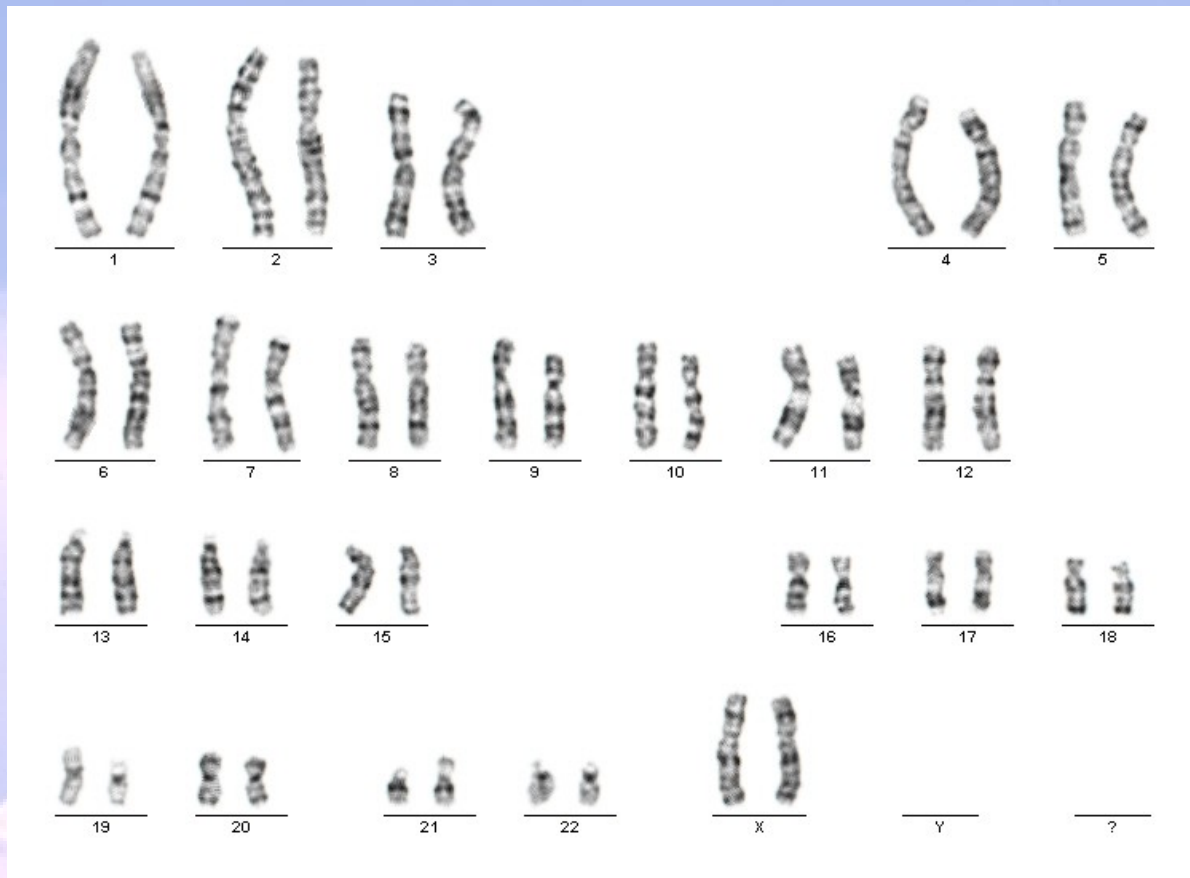
46,XY



CHROMOSOMY V PRAXI

normální ženský karyotyp

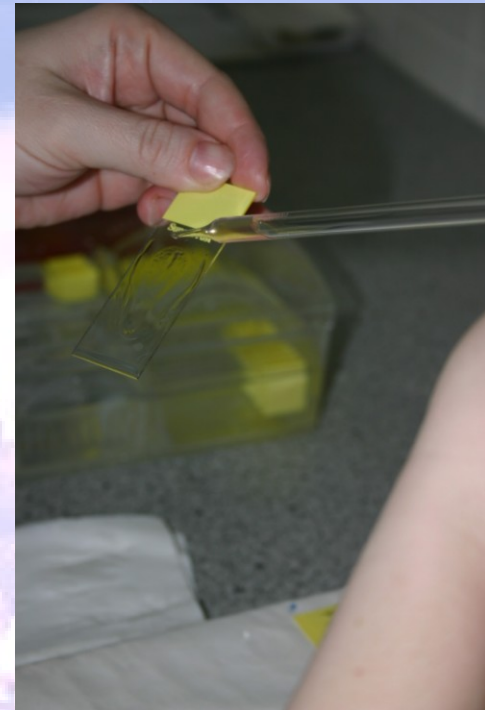
46,XX



METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

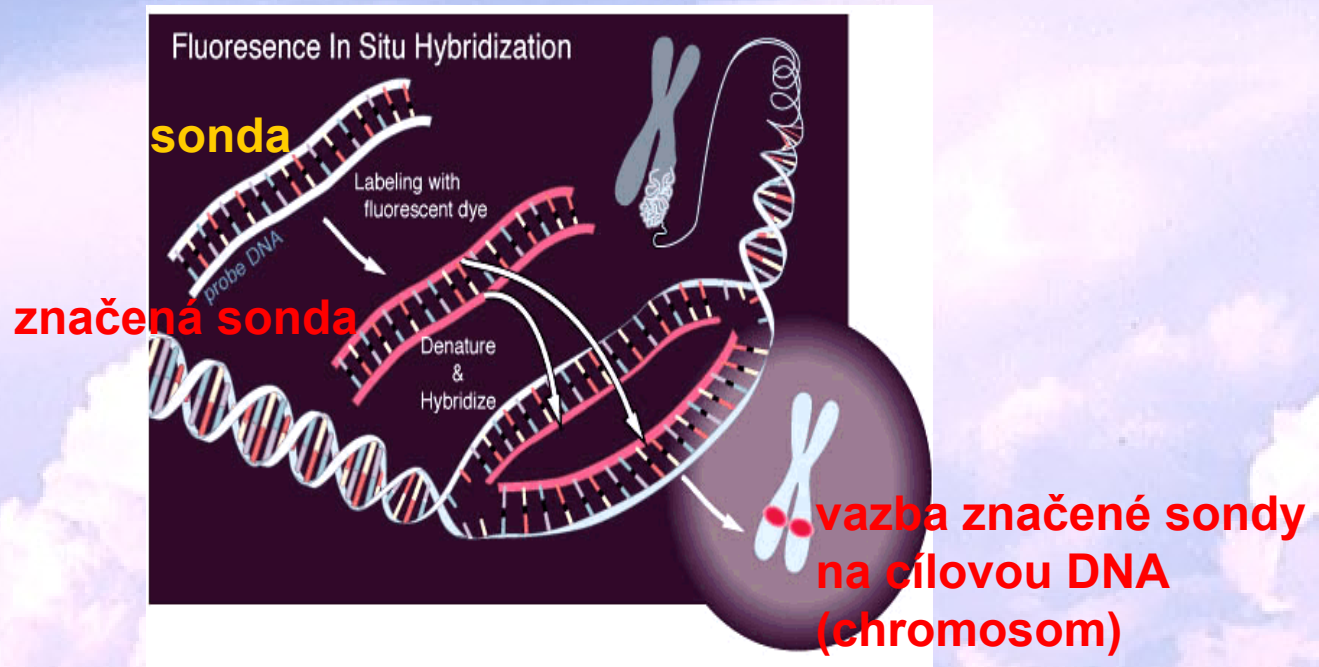
zpracování suspenze

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



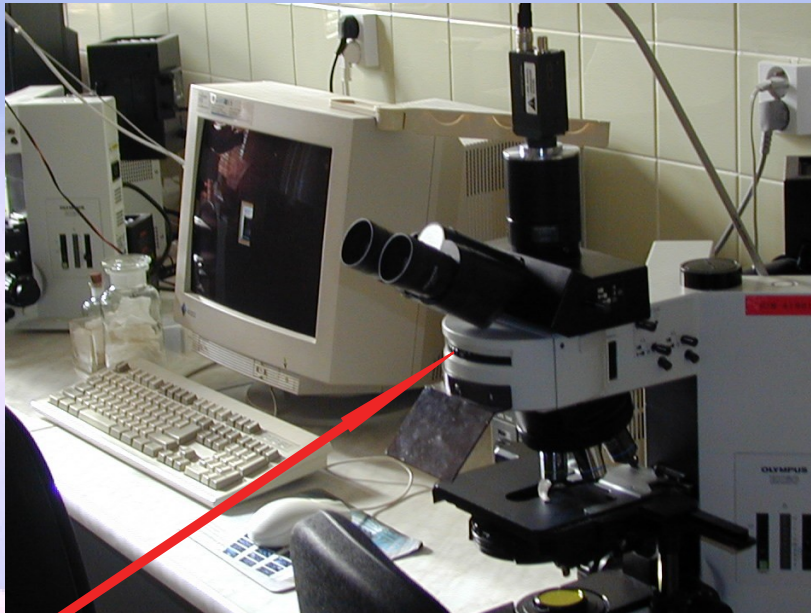
METODY MOLEKULÁRNÍ CYTOGENETIKY

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**

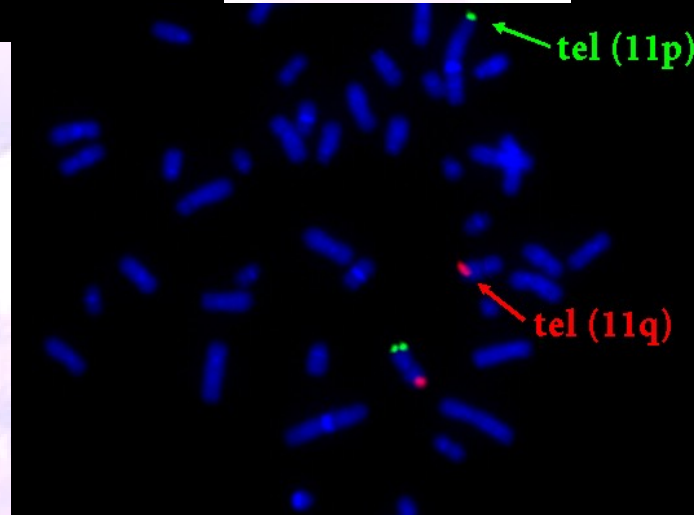
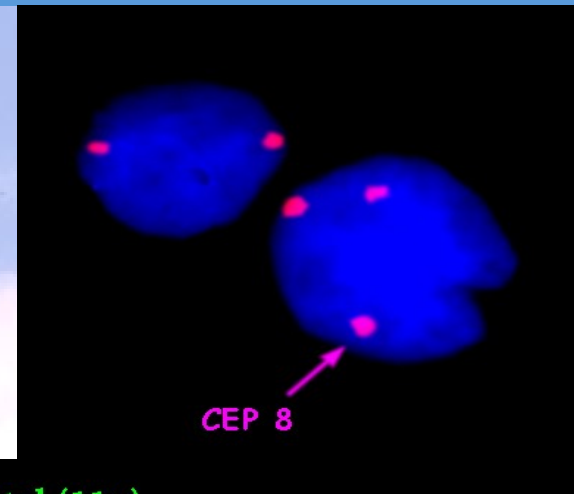
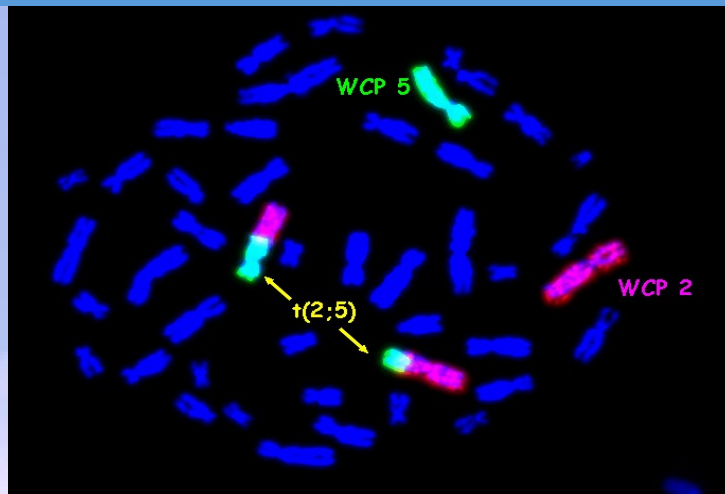


speciální filtry



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**)

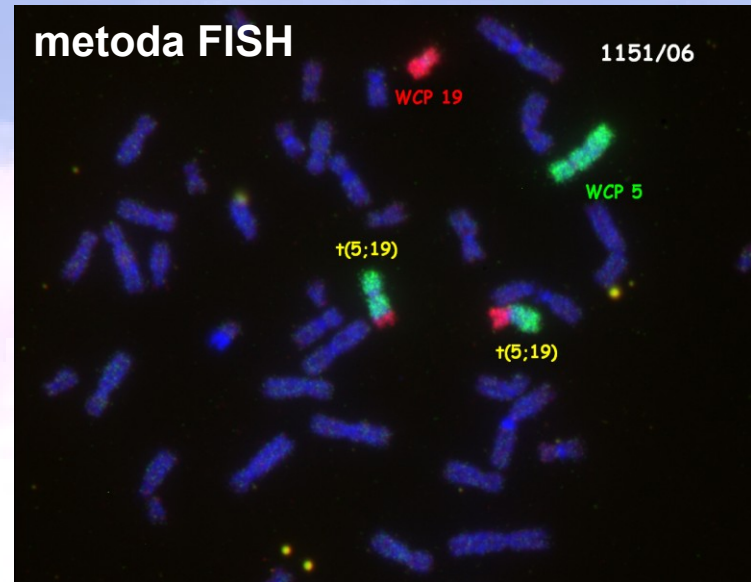
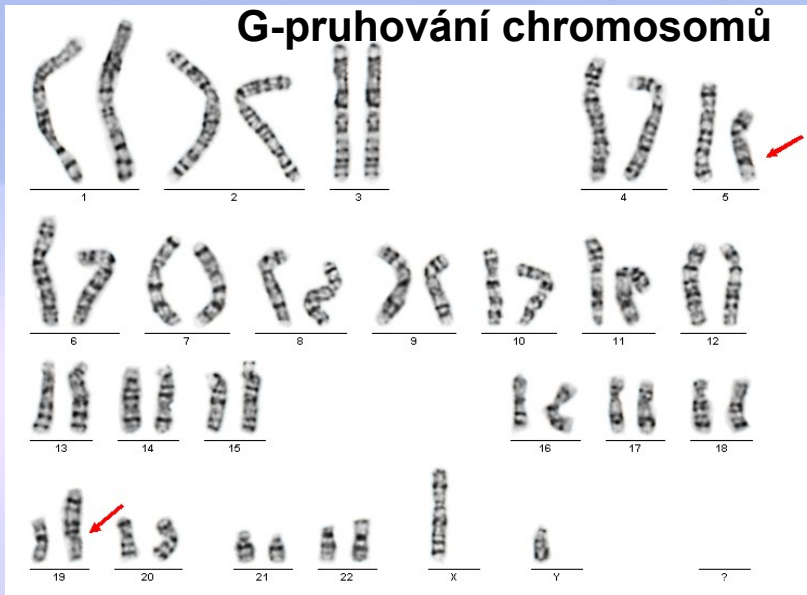


Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



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) !!!!!!!!!!!!!



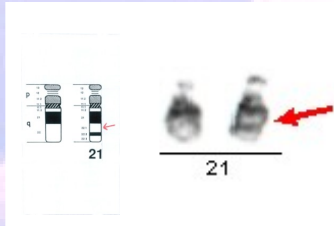
VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

strukturní změny

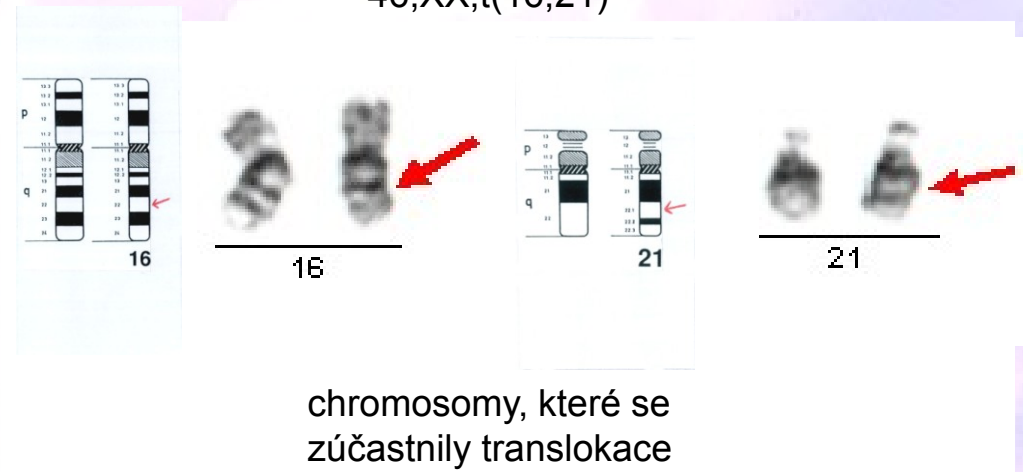
– např. translokace - derivovaný chromosom
vztah mezi balancovaným karyotypem
a zděděnou formou nebalancovaného karyotypu

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)



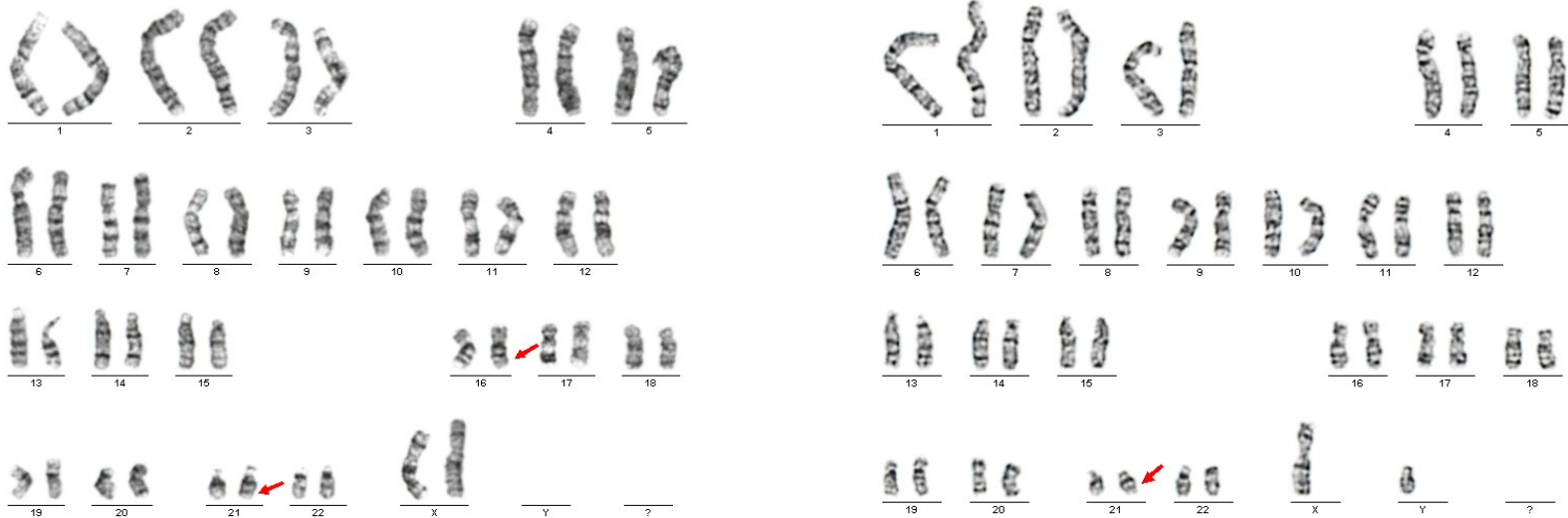
VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

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

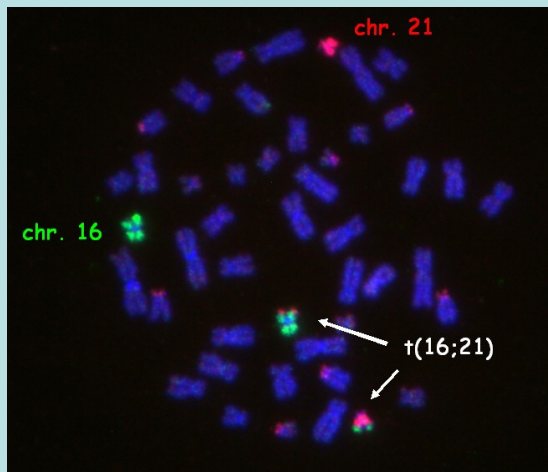
46,XY,der(21)t(16;21)(q22;q22.1)mat

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

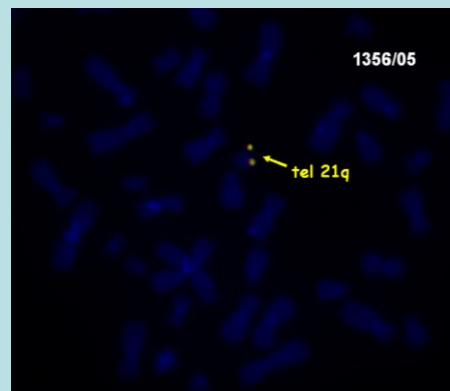
strukturní změny

– 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)

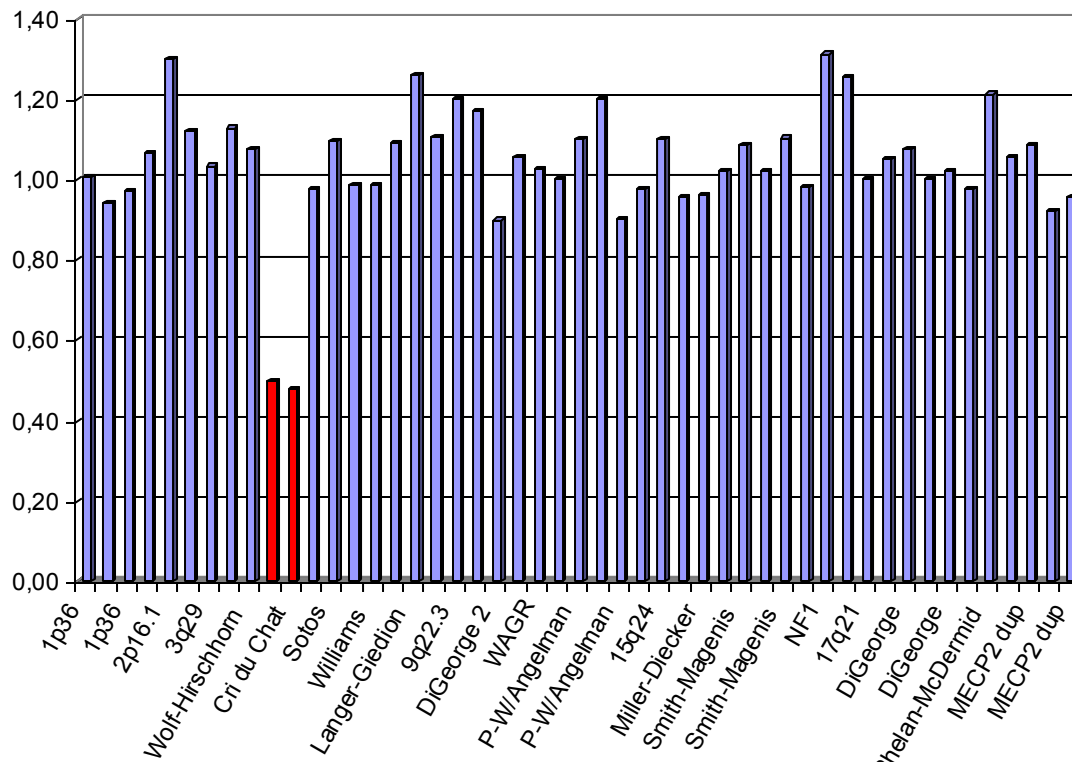


46,XX,del(5)(p14.1)

syndrom Cri du Chat

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

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



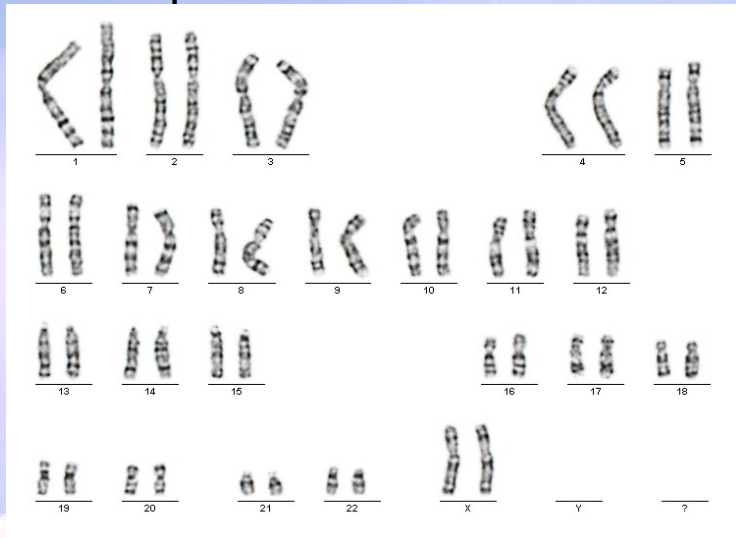
metoda MLPA (metoda molekulární cytogenetiky) – potvrzení nálezu

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

**strukturní změny – nebalancované aberace
mikrodelece**

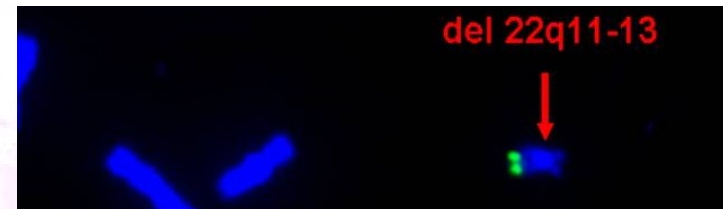
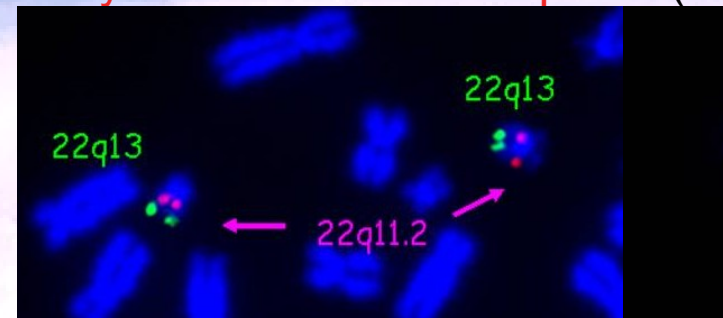
(pod rozlišovací schopností vyšetření chromosomů s G – pruhy)

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.



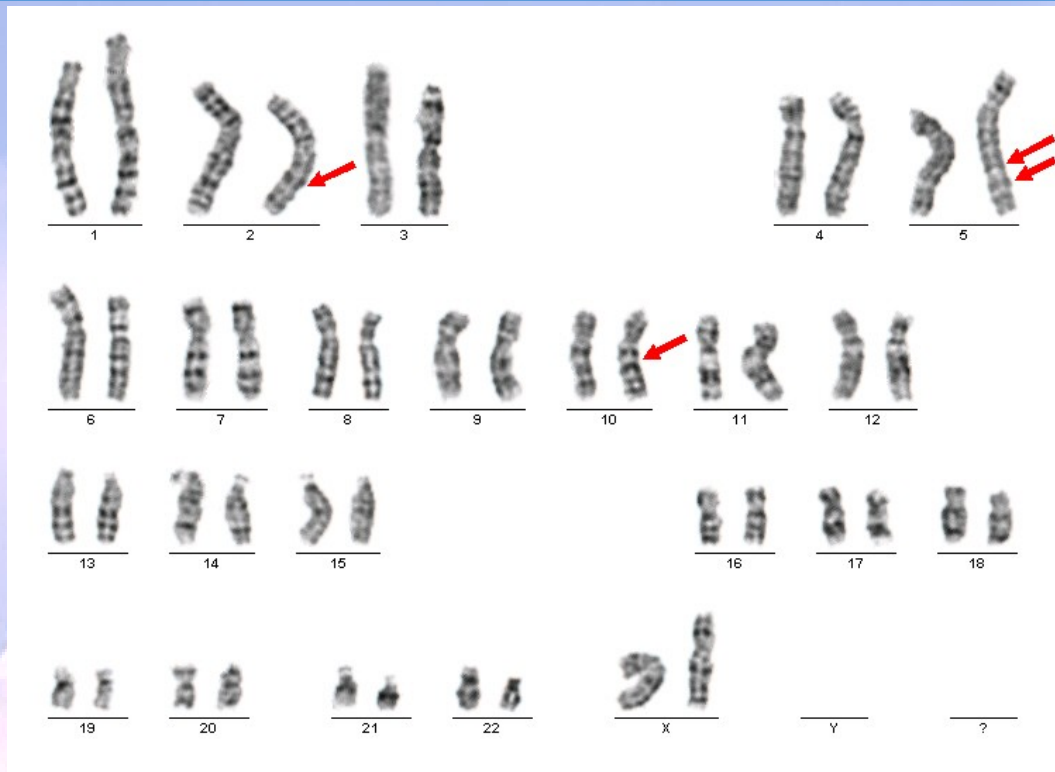
Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

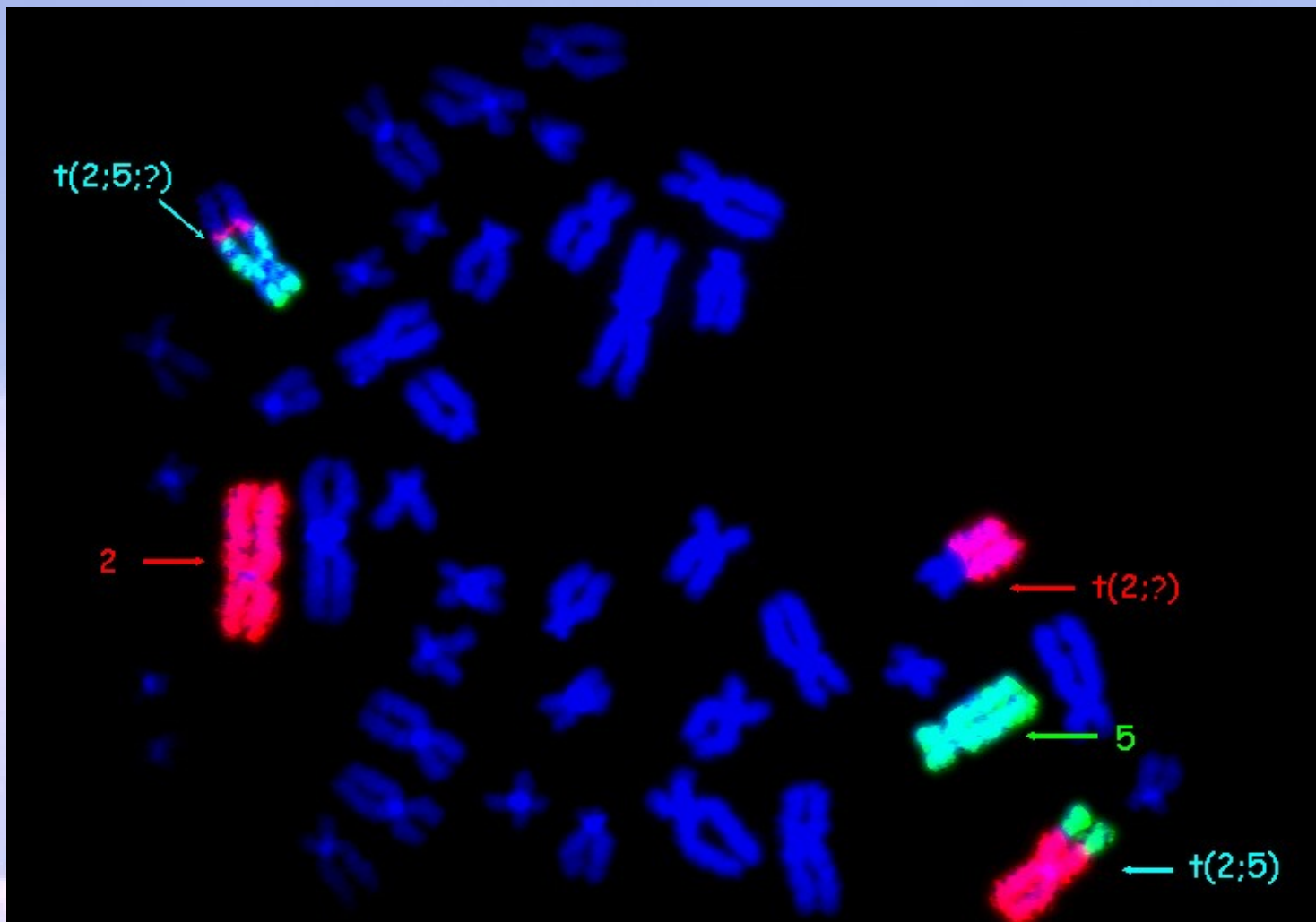
komplexní strukturní přestavby

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

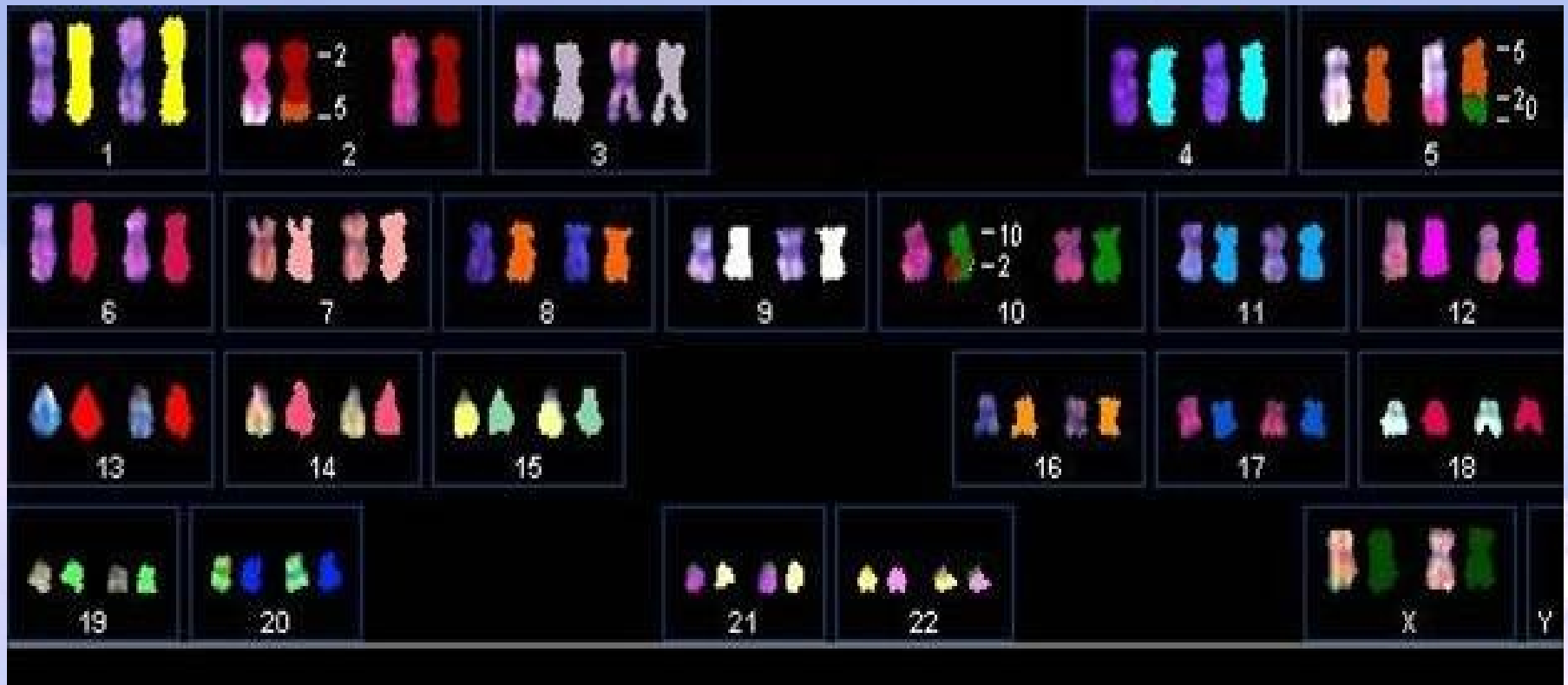


diskrétní stigmatizace, těžká PMR,
neprospívání

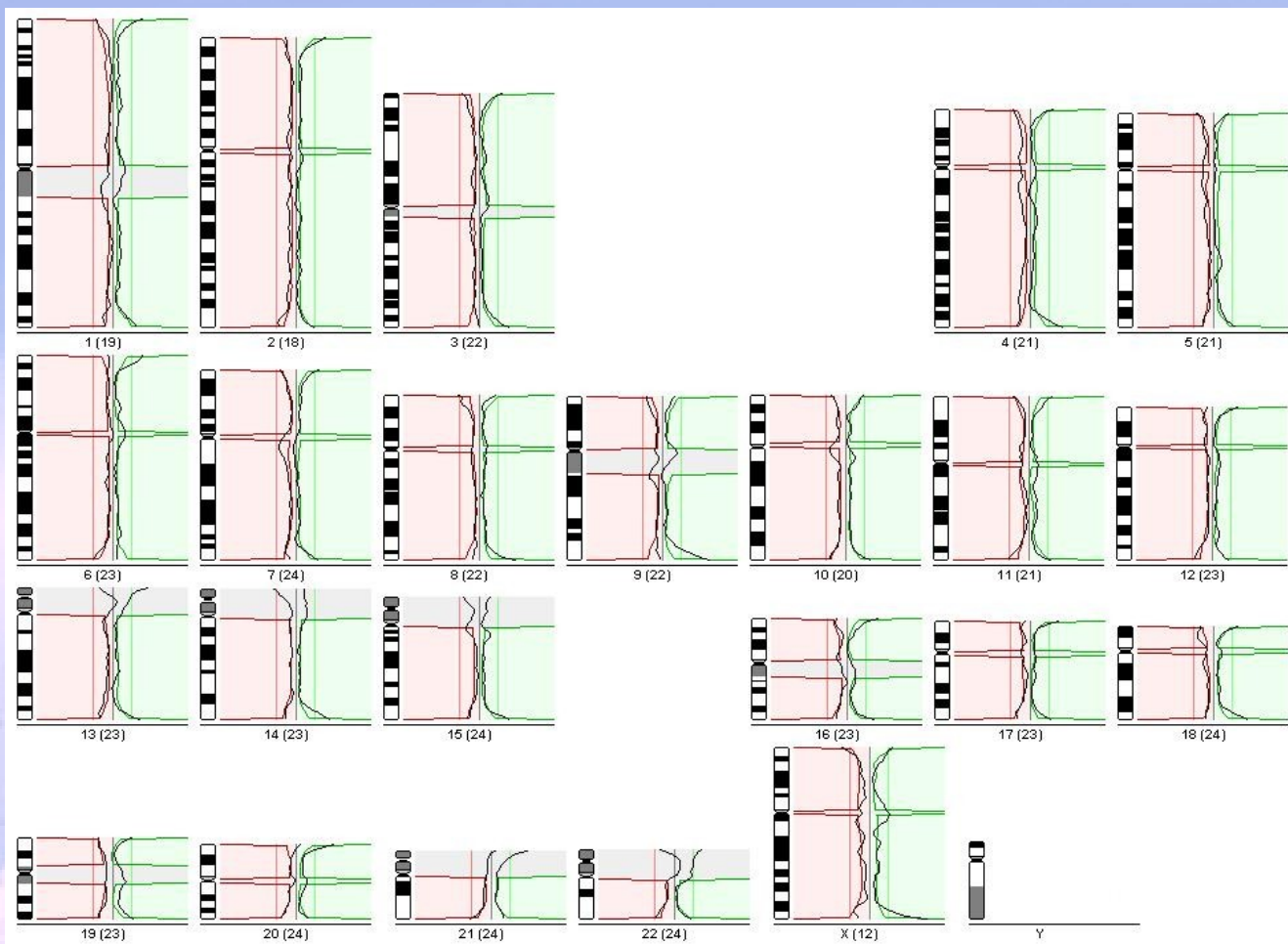
FISH: WCP 2, 5



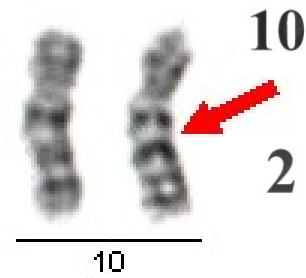
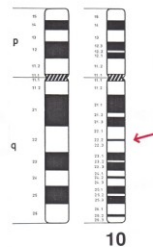
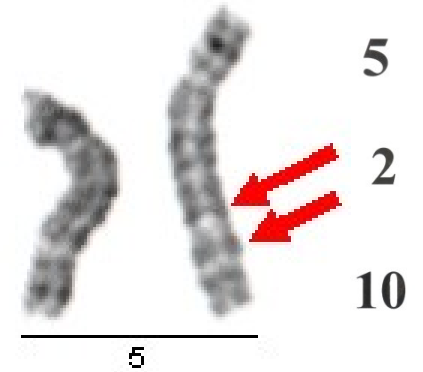
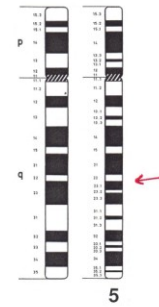
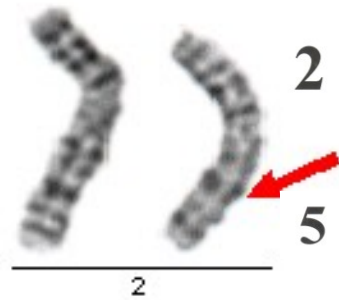
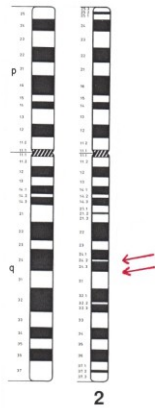
SKY: t(2;5),t(2;5;10),t(2;10)



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

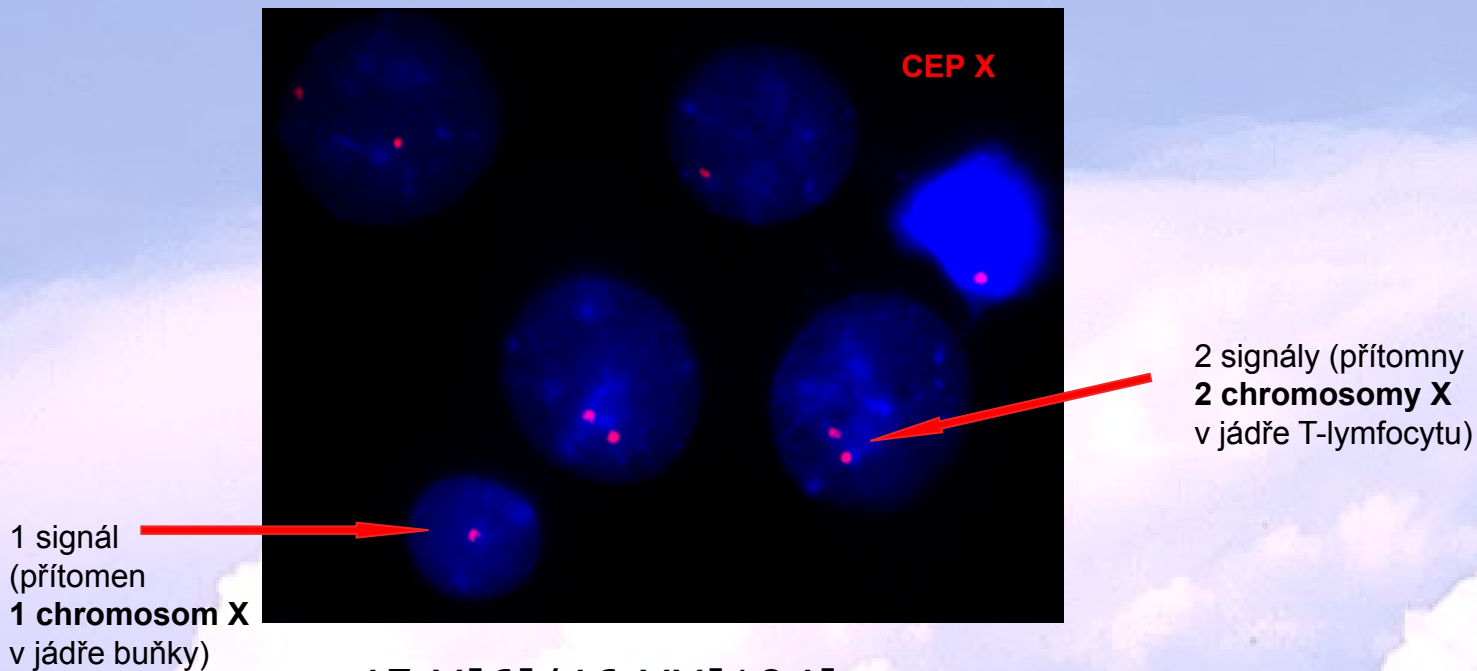


45,X[6]/46,XX[194]

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

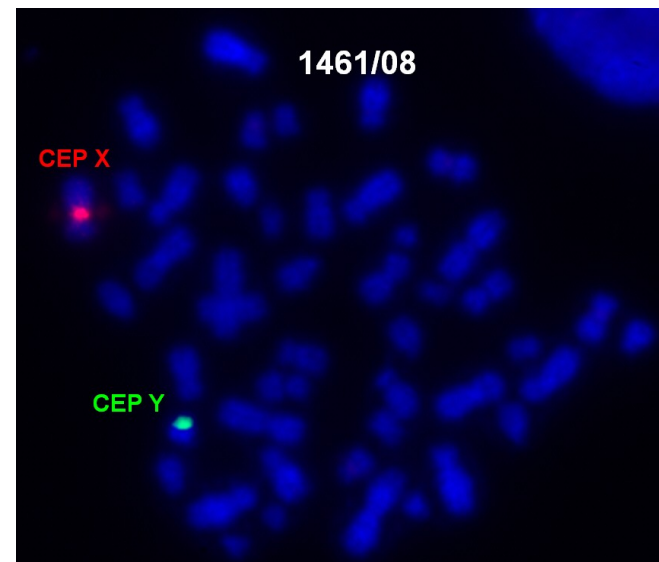


45,X[6]/46,XX[194]

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

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

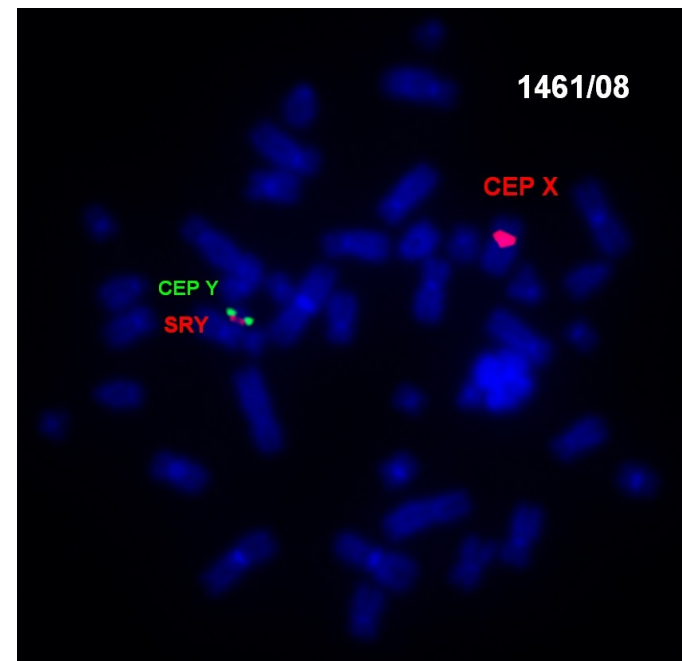
MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



buněčná linie 46,X,r(Y)?

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

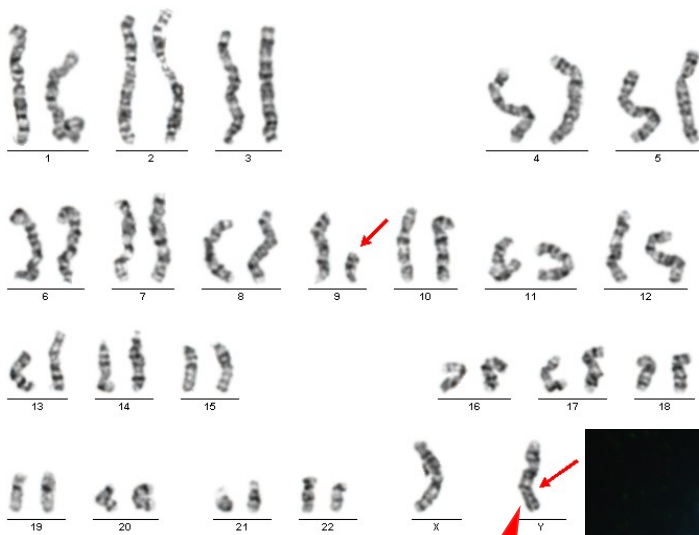
MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



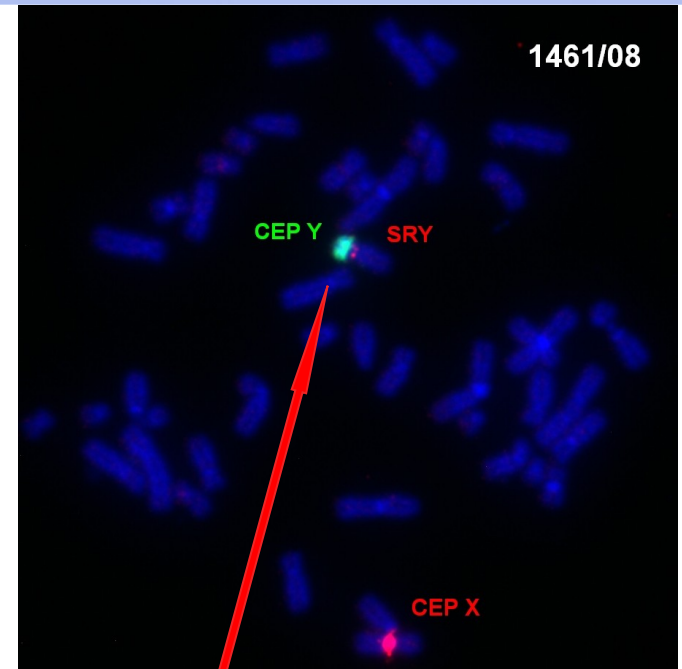
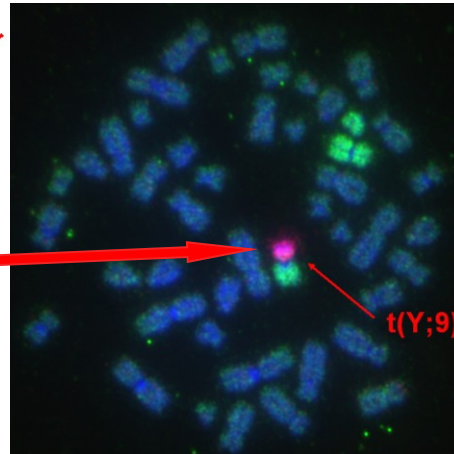
buněčná linie 46,X,mar(Y)?

VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

MOZAICISMUS – kombinace početní a strukturní aberace



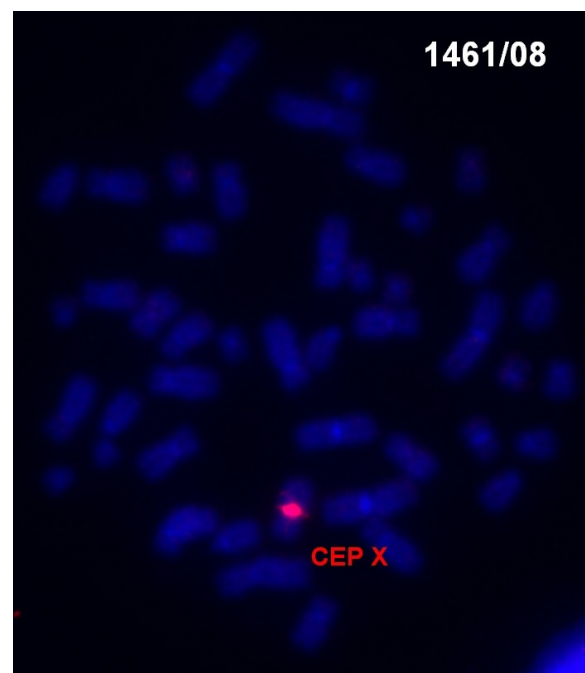
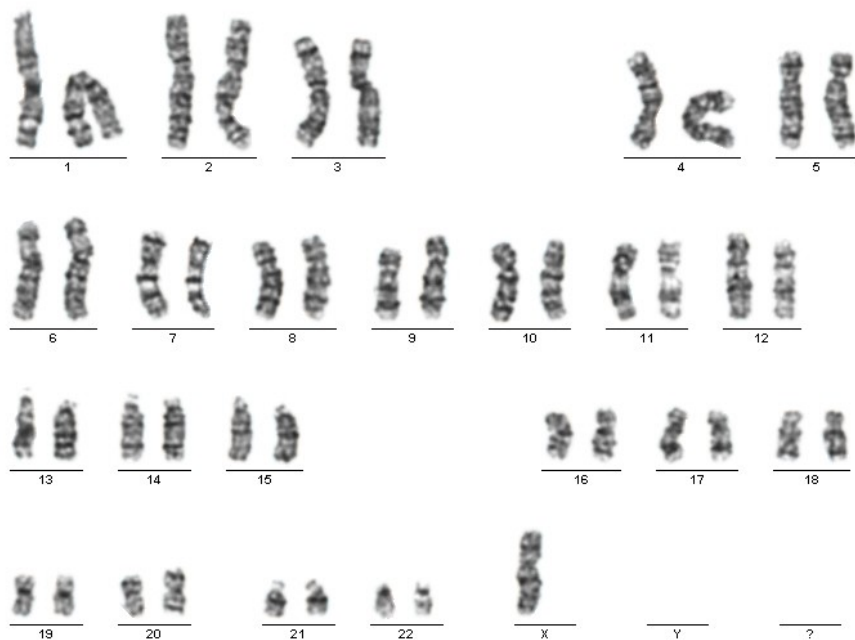
buněčná linie 46,X,t(Y;9)(p11?;q12?)



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

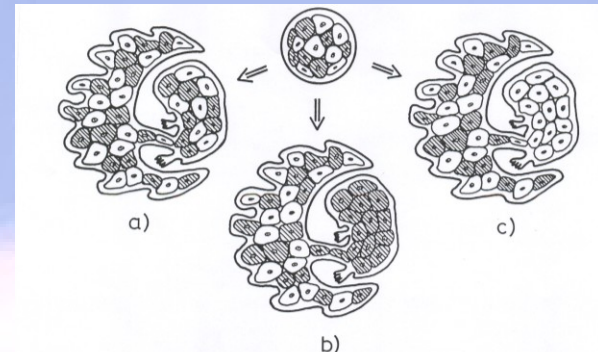
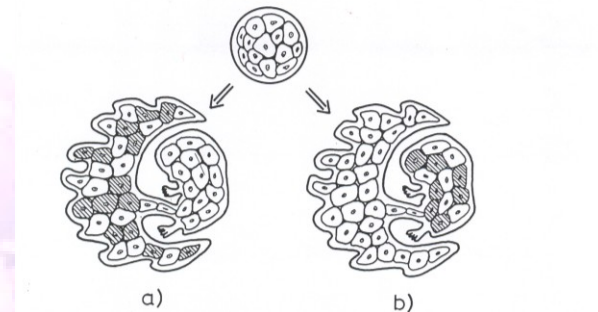


Fig. 1. Diagrammatic representation of the development of a mosaic morula resulting in a conceptus with chromosomal mosaicism involving both the chorion and the embryo; b, c conceptus with a nonmosaic embryo and mosaicism confined to the chorion



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

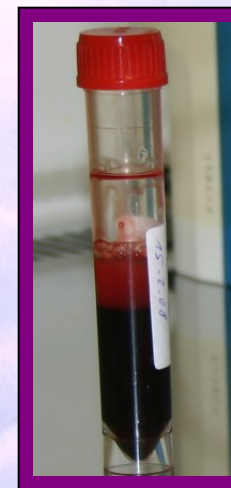
kostní dřeň



solidní nádory



periferní krev



VYŠETŘENÍ CHROMOSOMŮ

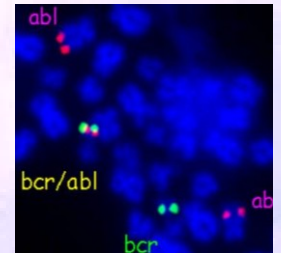
vyšetření v laboratořích
klasické a **molekulární** cytogenetiky

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

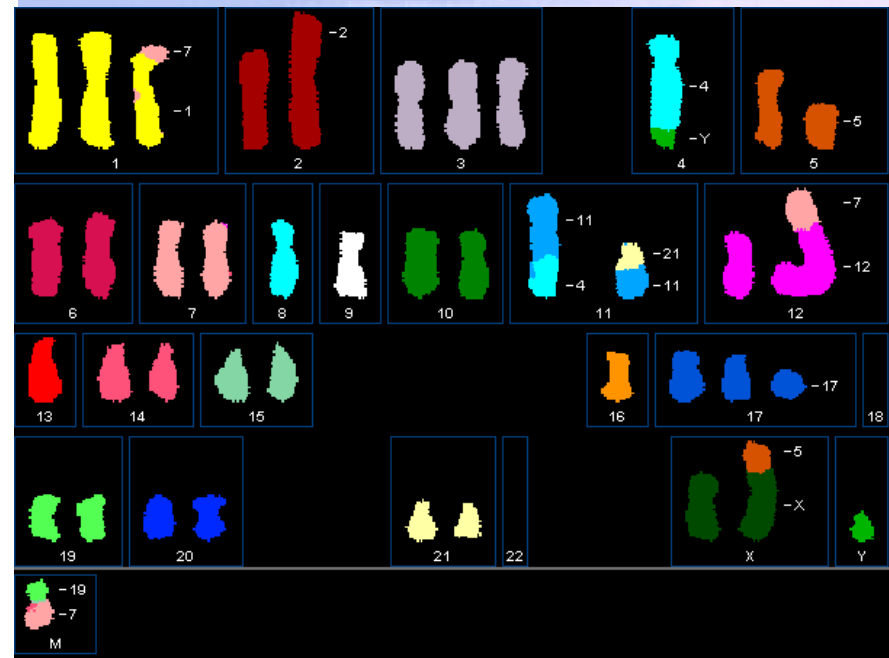
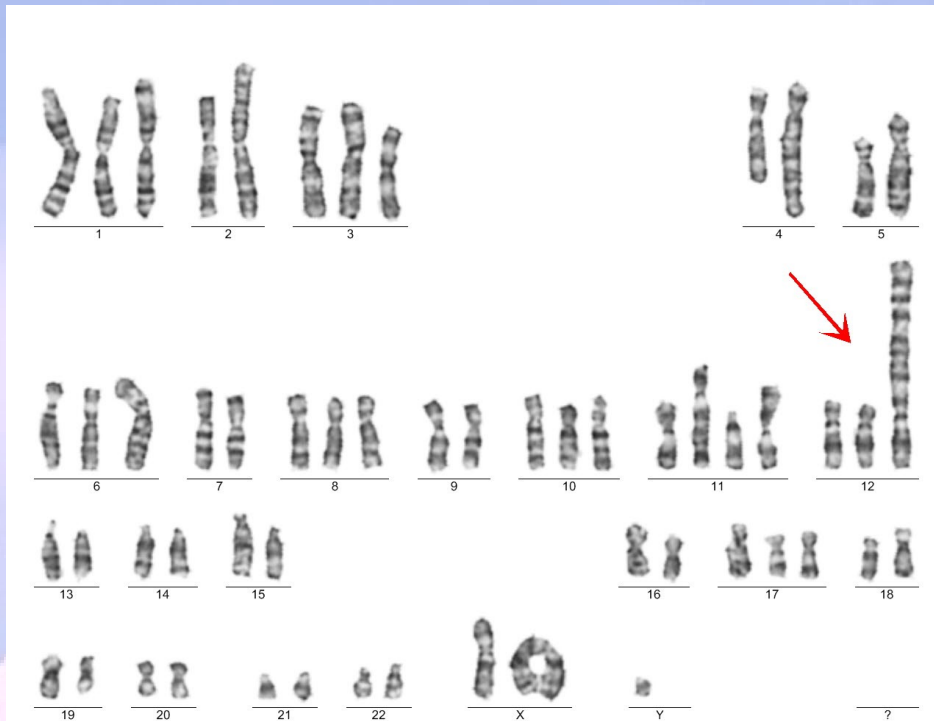


ONKOCYTOGENETIKA

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**)

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

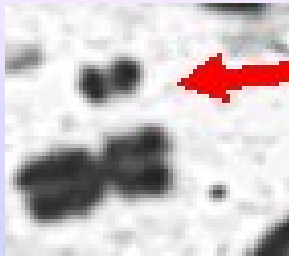
(vliv mutagenních faktorů prostředí)

- 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

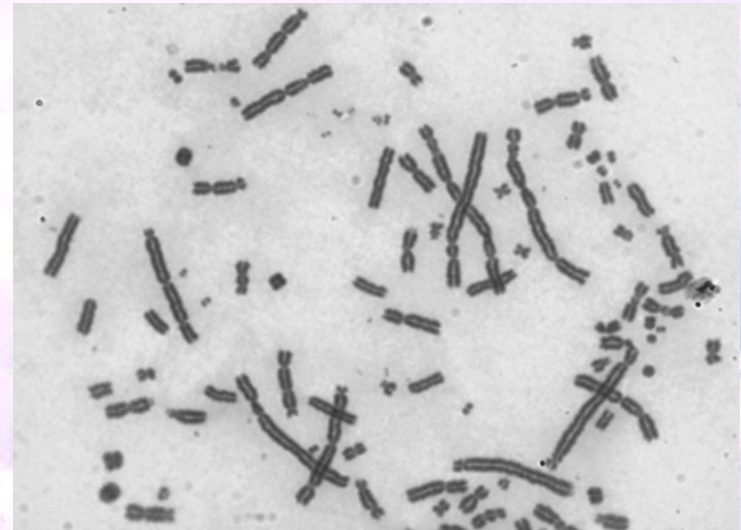
Přítomnost aberací v somatických buňkách

- 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



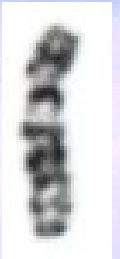
Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



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

