



FN MOTOL

Fakultní nemocnice v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Laboratoře ÚBLG

Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.

<http://www.fnmotol.cz/ublgl/>



Molekulárně genetické vyšetření aneuploidií chromozomů 13, 18, 21, X a Y pomocí metody QFPCR

Většina chromozomálních abnormalit plodu vzniká v důsledku početních odchylek chromozomů 13, 18, 21, X a Y. Tyto aneuploidie jsou zároveň příčinou postnatálních syndromů: Downův syndrom (trizomie chr. 21), Patauův syndrom (trizomie chr. 13), Edwardsův syndrom (trizomie chr. 18), syndrom Turnerové (monozomie chr. X) a Klienefelterův syndrom (47, XXY). Konvenčním diagnostickým postupem je kultivace buněk s následnou karyotypizací, která si vyžádá zhruba 2-3 týdny.

Metoda QF-PCR (kvantitativní fluorescenční PCR) umožňuje rychlou prenatální detekci nejčastějších aneuploidií (chromozomů 13, 18, 21, X a Y) pomocí vysoce polymorfních STR markerů specifických pro každý chromozom. Vzorek DNA získaný z plodové vody nebo CVS je amplifikován pomocí PCR s fluorescenčně značenými primery, takže produkty lze separovat a kvantifikovat na automatickém genetickém analyzátoru.

QFPCR umožňuje vyloučit nebo potvrdit numerické aneuploidie vybraných chromozomů do 2 dnů, což v rámci prenatální diagnostiky představuje zásadní výhodu oproti klasické karyotypizaci plodu, která trvá zhruba 2 týdny. Metoda vyžaduje malé množství materiálu a při porovnání STR markerů plodu a matky umožní také odhalit případnou kontaminaci vzorku.

Na druhou stranu je QFPCR vyšetření svými možnostmi poněkud limitované. Oproti klasické karyotypizaci se nedokáže vyjádřit k numerickým abnormalitám jiných chromozomů, než které jsou součástí příslušného QFPCR kitu. Dalším nedostatkem je nemožnost identifikovat balancované strukturní chromozomální aberace - například inverze nebo translokace. Problémy mohou nastat rovněž s abnormalitami, které se budou vyskytovat ve formě chromozomální mozaiky. Metoda není úspěšná u některých typů polyploidii - ve vzácných případech může být neinformativní pro všechny markery na jednom nebo více chromozomech. V takovém případě je nutno použít alternativní metodu buď metodu FISH nebo úplnou karyotypizaci.

Indikační kritéria

Prenatální:

- **vysoké riziko vrozené chromozomální aberace pro plod**
 - pozitivní I trimestrální nebo II trimestrální screening
 - vrozené vývojové vady na UZ
 - věk ženy nad 38 let
- **pokročilá gravidita** (odběr plodové vody po 21. týdnu těhotenství)

Postnatální:

- novorozenci se závažnými vývojovými vadami spojenými se suspektní aneuploidií chromozomu 13, 18 nebo 21
- vyloučení maternální kontaminace materiálu z abortu



FN MOTOL

Fakultní nemocnice v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Laboratoře ÚBLG**Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol**

Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.

<http://www.fnmotol.cz/ublg/>

Ústav biologie a lékařské genetiky

Analytické metody

Metoda	Vyšetřované chromozomy
Stanovení chromozomálních aneuploidií metodou QF-PCR pomocí diagnostické soupravy (CE IVD kit)	13, 18, 21, X, Y

Doby odezvy vzorků

Metoda	Doba odezvy vzorků (pracovní dny)	
	Běžně (Tkáň z abortu)	STATIM
Stanovení chromozomálních aneuploidií metodou QF-PCR pomocí diagnostické soupravy (CE IVD kit)	5	2

Kontaktní informace**Oddělení lékařské molekulární genetiky**

ÚBLG 2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84, Praha 5,
150 06

Centrální příjem vzorků:

Po – Pá
7:30h – 14.30h

Požadavky na vzorek

Krev – 5 ml do K₃EDTA (novorozenci 1ml, děti 1-2ml)

Plodová voda – 1,5 - 2ml nativní buňky – sterilní zkumavka

Choriové klky – 10 mg nativní buňky – sterilní zkumavka

Plodová voda nebo choriové klky – kultivované buňky – sterilní zkumavka 90-100% narostlá kultura buněk v 25 cm² kultivační lahvičce

Izolovaná DNA - 4 - 20 ng/μl v množství 20 - 30 μl

Tkáň z abortu – minimální množství cca 1 cm²

Vzorek označit minimálně jménem, příjmením a rodným číslem pacienta a datem odběru vzorku. DNA plodu značit jednoznačně jako DNA plodu.

Odkazy

Transport vzorku musí respektovat maximální dobu stability vzorku - viz Laboratorní příručka ÚBLG. Transport vzorku poštou musí vyhovět požadavkům České pošty.