

Vyšetření pomocí fluorescenční in situ hybridizace (FISH)

Analýze chromozomů molekulárně cytogenetickou metodou FISH obvykle předchází klasické vyšetření karyotypu, jímž lze identifikovat numerické a některé rozsáhlejší strukturní odchylky chromozomů. V případě negativního nálezu, při zjištění složitější strukturní aberace, marker chromozomu nebo při podezření na nízkofrekvenční mozaiku se s přihlédnutím ke klinickému nálezu pacienta indikuje další specializované vyšetření metodou FISH pomocí fluorescenčně značených DNA sond. FISH je možné užít i pro rychlou detekci chromozomových aneuploidií či delecí (resp. duplikací) na interfázních i metafázních buňkách.

Používány jsou sondy pro satelitní DNA (centromerické oblasti, krátká ramena akrocentrických chromozomů, telomerické repetice), lokus specifické sondy pro jedinečné genové regiony a malovací WCP sondy pro označení celého chromozomu nebo jeho ramene. Vyšetření se provádí na buňkách ve fázi dělení – mitózách a na buněčných interfázních jádrech. Metoda FISH umožňuje diagnostiku malých chromozomových přestaveb a verifikaci, upřesnění či doplnění výsledků zjištěných základním cytogenetickým vyšetřením (G-pruhování), metodou MLPA a array CGH. Metoda je mnohem citlivější než G-pruhování, ale validní výsledek zaručuje jen pro danou vyšetřovanou oblast, nikoli pro celý karyotyp.

Indikační kritéria

jsou podobná jako u vyšetření karyotypu a platí tedy, že chromozomové aberace jsou obvykle spojeny s komplexem fenotypových odchylek – mají charakter syndromů. Počet známých mikrolečních/duplikačních syndromů kontinuálně vzrůstá, proto se zvyšují i možnosti indikací.

Postnatální vyšetření:

- Upřesnění výsledku karyotypu (marker chromozom, mozaicismus, nebalancovaná i balancovaná aberace)
- Detekce a stanovení stupně mozaicismu chromozomových aneuploidií či nebalancovaných strukturních přestaveb
- Mikroleční / duplikační syndromy - známé i nově objevené pomocí array CGH nebo MLPA

Prenatální vyšetření:

- Věk matky nad 37 (35) let
- Abnormální výsledek biochemického a ultrazvukového screeningu pro Downův syndrom a vrozené vývojové vady
- Intrauterinní růstová retardace
- Zvýšená hodnota šíjového projasnění a absence nosní kosti u plodu
- Nález ultrazvukových markerů a vrozených vad spojených s konkrétní aberací u plodu
- Nosičství balancovaných aberací u rodičů
- Aneuploidie chromozomu u dítěte, resp. u plodu z předchozí gravidity

Výsledek není roven vyšetření karyotypu! Týká se pouze lokusů komplementárních s použitými sondami.

Analytické metody

Metoda	Vyšetřované oblasti:
Centromerické sondy	Numerické hodnocení, mozaicismus, marker chromozomy
Lokusově specifické sondy	Mikrodeleční/duplikační syndromy, subtelomerické oblasti, ověřování nálezů array CGH, karyotypu či MLPA, mozaicismus
Malovací sondy	Přestavby chromozomů, marker chromozomy
Acro-p-arm sonda	Přestavby akrocentrických chromozomů

Doby odezvy vzorků

Materiál	Doba odezvy (pracovní dny):	
	Běžně	Statim
Krev – venózní, pupečnicková	20	10 (podle dodání materiálu a eventuálního opakování kultivace)
Plodová voda	je vždy statim	při kultivaci: 21 nativ: 3
Choriové klky	je vždy statim	při kultivaci: 28 nativ: 3
Placenta, tkáň z potratu	30	10
Kůže, sval, ovarium a jiné tkáň	60	neprovádí se
Buněčná suspenze po kultivaci, event. hotové preparáty	10	10
Stěr bukalní sliznice	10	10

V případě nutnosti objednat sondy může vyšetření trvat déle než jeden kalendářní měsíc.

Kontaktní informace	Požadavky na vzorek	Odkazy
Oddělení lékařské cytogenetiky 4. patro, G ÚBLG 2. LF UK a FN Motol, V úvalu 84/1, Praha 5, 150 06 Tel. 22 44 33 568 Centrální příjem vzorků: Po–Pá 7:30 až 14:30 h	Krev: 3 ml do zkumavky LiHe (novorozenci 1–2 ml) Plodová voda: 20 ml do sterilních zkumavek nebo kultivačních lahvíček Choriové klky: 20 mg do kultivační lahvičky s médiem (na požádání možno vyzvednout v laboratoři) Jiné tkáň: množství dle možnosti, optimálně do kultivační lahvičky s médiem, eventuálně do sterilní zkumavky s fyziologickým roztokem. Bukální sliznice: množství individuální – stěrová tyčinka s buňkami bukalní sliznice umístěná buď nasucho ve sterilní zkumavce či ve fixaci (na požádání možno vyzvednout v laboratoři) Suspenze kultivovaných buněk, preparáty: po dohodě podle požadovaného vyšetření Vzorek označit minimálně jménem, příjmením a rodným číslem pacienta a datem odběru vzorku.	Odkazy 1) ISCN 2020: An International System For Human Cytogenomic Nomenclature, edit. McGowan-Jordan J., Hastings R.J., Moore S.. 2020 2) Fluorescence <i>In Situ</i> Hybridization (FISH). Clare O'Connor, Ph.D. (Biology Department, Boston College) 2008 Nature Education

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