

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

Většina chromozomových 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 prenatalní detekci nejčastějších aneuploidii (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 2-3 dnů, což v rámci prenatalní 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 chromozomové aberace - například inverze nebo translokace. Problémy mohou nastat rovněž s abnormalitami, které se budou vyskytovat ve formě chromozomové 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 FISH nebo úplnou karyotypizaci.

Indikační kritéria

Prenatální:

- **vysoké riziko vrozené chromozómové 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 aneuploidii chromozomu 13, 18, 21, X a Y
- vyloučení maternální kontaminace materiálu z abortu nebo při odběru choriových klků

Analytické metody

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

Doby odezvy vzorků

Metoda	Doba odezvy (pracovní dny)	
	Běžně	Statim
Stanovení chromozomových aneuploidií metodou QF-PCR pomocí diagnostické soupravy (CE IVD kit)	5	3

Kontaktní informace

Oddělení lékařské cytogenetiky

4. patro, G

ÚBLG 2. LF UK a FN Motol

V úvalu 84/1, Praha 5, 150 06

Centrální příjem vzorků:

Po–Pá

7:30 až 14:30 h

Požadavky na vzorek

Krev: min. 4 ml do K₃EDTA (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)

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

Izolovaná DNA: koncentrace 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.

Transport vzorku musí respektovat maximální dobu stability vzorku - viz Laboratorní příručka ÚBLG.