

1. ÚVOD

Genetika je biologická věda zabývající se dědičností, geny a proměnlivostí organismů. Základy genetiky položil Gregor Johann Mendel, když prováděl pokusy na rostlinách [21]. V současné době je genetika rozsáhlý obor. Velký význam pro člověka má lékařská neboli klinická genetika. Zabývá se studiem variability a dědičnosti chorob, které jsou významné pro praktickou medicínu a lékařský výzkum. V genetických ambulancích je prováděno genetické poradenství, které má zásadní význam zejména při plánování potomků a prevenci vrozených vývojových vad [24].

Obecně je vrozená vývojová vada definována jako odchylka struktury, funkce či biomechanismu přesahující meze normální variability druhu, které svého nositele znevýhodňuje vzhledem k ostatním jedincům. Jedná se především o vady strukturální, chromozomální, dále vady vznikající znetvořením již vytvořeného orgánu mechanickým stresem a deformací. Z etiologického hlediska může být vada podmíněna geneticky nebo se na jejím vzniku mohou podílet vlivy negenetické [33].

V této práci se zabývám chromozomovými změnami u dětí s vrozenými vývojovými vadami, tedy odchylkami genetickými. Jako chromozomové aberace se v širším slova smyslu označují všechny odchylky chromozomů numerického nebo strukturního charakteru zjistitelné dostupnými cytogenetickými metodami [18]. Tyto odchylky popisují v kontextu VVV způsobených dalšími genetickými a negenetickými příčinami.

2. VROZENÉ VÝVOJOVÉ VADY

VVV jsou defekty orgánů, ke kterým došlo během prenatálního vývoje plodu a jsou přítomny při narození jedince. Postihují v různém rozsahu přibližně 3% novorozenců. Prevencí VVV a jejich včasnou diagnostikou se zabývá genetické poradenství.

Příčinou vzniku VVV mohou být změny genetické informace (tedy mutace) nebo vnější vlivy. Tyto vnější faktory, které VVV způsobují, označujeme jako teratogeny:

- **chemické**- do této skupiny patří především léčiva (např. některá antibiotika, antiepileptika, cytostatika), prokázán je i teratogenní účinek alkoholu a drog.

Chemické teratogeny vyvolávají 2-5% VVV.

- Warfarin- podávání tohoto antikoagulancia je spojeno se syndromem identickým s těžkou formou chondrodysplasia punctata.
- Alkohol- abusus alkoholu v těhotenství způsobuje fetální alkoholový syndrom- FAS. Klinicky se projevuje atypickou facies, hypotrofií, mentální retardací a vrozenou srdeční vadou.
- Antiepileptika- spektrum defektů je velké, zahrnuje vrozené srdeční vady, rozštěpové vady obličeje, defekty neurální trubice a další.
- Valproát- preparát je považován za potenciální humánní teratogen především pro zvýšené riziko výskytu rozštěpový vad neurální trubice.

- **fyzikální-** nejčastěji se setkáváme se zářením. Radioaktivní záření způsobuje zlomy chromozomů, zatímco rentgenové záření může nepříznivě ovlivnit vývoj neurální trubice. Proto by těhotné v prvních 3 měsících gravidity raději neměly podstupovat rentgenové vyšetření. Pokud je to možné, lze užít šetrnější zobrazovací techniky. Při vysoké intenzitě ozáření embrya in utero je nutno počítat s možností potratu, intrauterinní růstové retardace nebo vznikem různých typů VVV, především CNS. Fyzikální teratogeny se podílejí na vzniku VVV přibližně v 1%.
- **biologické-** do této kategorie řadíme infekce matky, které zejména v časných stádiích těhotenství mohou vážně narušit vývoj plodu. Teratogenní účinek je způsoben přímým toxickým poškozením buněk infekčním agens nebo nepřímo hypertermií s následným poškozením buněk embrya. Podíl infekcí na VVV plodu činí 3-10%.

Jsou známy následující infekce, které představují riziko pro vznik VVV plodu:

- Toxoplasmóza- onemocnění u matky často probíhá bez příznaků, proto doporučujeme serologické vyšetření všech těhotných žen před plánovaným těhotenstvím nebo v prvním trimestru. K základním poškozením plodu patří chorioretinitis, vady CNS spojené s křečemi, hepatosplenomegalie a exanthem.

- Rubeola- kongenitální rubeola byla donedávna v západoevropské populaci jednou z nejčastějších vrozených infekcí s potvrzeným teratogenním účinkem. K základním symptomům syndromu kongenitální rubeoly patří katarakta, hluchota, vrozené srdeční vady, mikrocephalie s mentální retardací. Aktivní imunizace proti zarděnkám je proto považována za jeden z nejvýznamnějších kroků primární prevence, kdy můžeme zabránit těžkému poškození plodu.
- Cytomegalová infekce- nejčastěji působí mikrocephalii s mentální retardací, chorioretinitidu, hluchotu, hepatosplenomegalii a purpuru u plodu.
- Vrozená HIV infekce- v současné době je stále rostoucím problémem, typické malformace zatím nejsou známy. Minimálně u 30% žen, které jsou postiženy touto infekcí, je prokázán přenos na plod.
- Varicella zoster
- Herpes simplex

- **metabolické**- mezi metabolické teratogeny řadíme některé choroby matky (například diabetes mellitus, fenylketonurie, lupus erythematoides).

[2, 6, 26]

2.1 PRAVIDLA TERATOGENEZE

- Citlivost k teratogenu závisí na genotypu zygoty.
- Maternální genotyp a zdravotní stav matky ovlivňuje metabolismus léků, odolnost vůči infekcím a metabolické procesy.
- Vnímavost závisí na vývojovém stadiu a době expozice.
- Závažnost závisí na dávce a době trvání expozice teratogenu.
- Jednotlivé teratogeny mají specifické mechanismy působení.
- Abnormality se projevují jako malformace, růstová retardace, funkční poruchy nebo úmrtí.

2.2 KLASIFIKACE VAD

- Malformace- následek poruch objevujících se v počátečních obdobích vývoje struktur.
- Disrupce- následek destruktivních procesů působících v době, kdy je orgán již vytvořen.
- Deformace- poruchy způsobené abnormálními mechanickými silami.
- Dysplazie- poruchy způsobené abnormální organizací buněk ve tkáních.
- Sekvence- kaskádovité následky vzniklé na podkladě dřívějších abnormalit.
- Syndromy- skupiny anomálií, které se trvale vyskytují společně.

Podle příčiny rozlišujeme VVV na monogenně podmíněné, polygenně dědičné, exogenně podmíněné a chromozomální vady.

[15]

3. MUTACE

Mutace je definována jako jakákoliv změna v nukleotidové sekvenci nebo v uspořádání DNA [13]. Dělíme je na spontánní (vzniklé chybou v replikačním a reparačním mechanismu DNA) a indukované, uměle vyvolané mutageny [22].

3.1 TYPY MUTACÍ

- Genové- týkající se jednotlivých genů, mezi které patří inserce, delece, inverze a substituce.
- Chromozomové- týkající se struktury chromozomů, mezi které řadíme duplikace, delece, inverze a translokace [13].
- Genomové- týkající se počtu chromozomů (zvané aneuploidie), které vznikají chybami při segregaci chromozomů během meiózy nebo mitózy [13].

3.2 VLIV MUTACÍ

Většina mutací má vliv buďto negativní, nebo žádný. Mutací, které pozitivně ovlivní vlastnosti organismu a kterým je přisuzován významný vliv na evoluci, je ve srovnání se škodlivými nebo neutrálními velmi málo [22].

3.3 ČETNOST MUTACÍ

Četnost mutací se liší druh od druhu a v závislosti na prostředí, v němž se organismus nachází.

Obecně lze říci, že četnost mutací roste:

- s rychlostí rozmnožování
- s rostoucím vlivem mutagenů
- se zhoršujícími se životními podmínkami a zdravotním stavem organismu

[22]

4. MONOGENNĚ PODMÍNĚNÉ VADY

Podstatou této skupiny genetických chorob je odchylka (mutace) DNA na úrovni genu (bodová mutace). Pro monogenně dědičné vady je charakteristická dědičnost jednoduchého mendelovského typu, autozomálně dominantního a recesivního, nebo na X-chromozom vázaného recesivního, případně dominantního charakteru [35].

4.1 AUTOZOMÁLNĚ DĚDIČNÉ CHOROBY

Jako autozomální dědičnost označujeme stav, kdy jsou alely genu zodpovědného za onemocnění umístěny na lokusech autozomů. Exprese genu ve fenotypu je ovlivněna párováním alel příslušného lokusu. Jedinec, který zdědí po obou svých rodičích stejnou alelu daného genu, je v tomto genu homozygotní, zdědí-li alely různé, je heterozygotní [12]. Autozomálně dědičné choroby můžeme rozdělit na recesivní a dominantní.

4.1.1 AUTOZOMÁLNĚ RECESIVNÍ CHOROBY

➤ *Fenylketonurie*

Vrozená porucha metabolismu aminokyseliny fenylalaninu, který nemůže být přeměněn na tyrozin, a tudíž jeho hladina v krvi stoupá a odbourává se na jiné produkty (kyselina fenylmléčná, fenylpyrohroznová a fenylactová). To vede k poškození CNS a následné mentální zaostalosti. U postižených jedinců musí být dodržována přísná dieta. Neléčené onemocnění může v CNS způsobit těžké defekty. Výskyt onemocnění v populaci se uvádí v poměru 1:8000 - 1:10000 [35].

➤ ***Galaktosemie***

Podstatou onemocnění je blokáda metabolismu galaktózy, která znemožňuje přeměnu galaktózy na glukózu a její využití. Galaktóza se hromadí v organismu a metabolizuje se na galaktitol. Ten působí toxicky na játra, mozek (vznik mentální retardace), ledviny a oční čočky - může vést k jejich poškození až slepotě. Neléčené onemocnění vede až ke smrti jedince. Galaktosa je mléčný cukr, a proto musí být nemoc u novorozenců rychle diagnostikována a jako terapie nasazena bezmléčná dieta. Výskyt asi 1:60000 [3].

➤ ***Cystická fibrosa***

Příčinou choroby je mutace CFTR genu, díky které je kódován protein s pozměněnou strukturou a funkcí. Mutovaný CFTR protein neplní správně funkci iontového kanálu v postižených buňkách, tím dochází k abnormálnímu přenosu elektrolytů přes membrány. Jedná se o nejčastější letální AR chorobu v bělošské populaci (výskyt 1:2000 - 1:2500). Postihuje žlázy s vnitřní sekrecí (pankreas, játra). V plicích se navíc tvoří vazký hlen vedoucí k respiračním potížím. Sekundární infekce dýchacích cest může vést k vážnému poškození plic, i k smrti. Ucpávání žlučovodů vede k poruchám trávení. U postižených žen je plodnost snižena, muži bývají neplodní [3].

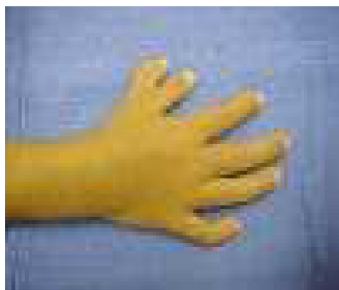
4.1.2 AUTOZOMÁLNĚ DOMINANTNÍ CHOROBY

➤ *Familiární hypercholesterolemie*

Onemocnění je způsobeno mutací genu kódujícího membránový receptor pro LDL. LDL jsou skupina lipoproteinů, která transportuje většinu cholesterolu. Při absenci membránových receptorů pro LDL dochází ke kumulaci LDL a cholesterolu v krevním řečišti a poškozování cév. Postižení jedinci mají mnohem vyšší riziko vzniku infarktu myokardu než zbytek populace [25].

➤ *Syndaktylie, polydaktylie*

Je charakterizována srůstem, respektive znásobením několika prstových článků. Onemocnění je relativně časté, ale dá se velmi dobře řešit chirurgickou cestou v raném věku [3].



(obr. 1 syndaktylie [32])



(obr. 2 polydaktylie [32])

➤ *Brachydaktylie*

Projevuje se krátkými, zavalitými prsty. Často bývá popisován malý vzrůst, krátké ruce a nohy. Rozsah je velmi variabilní [3].

➤ ***Arachnodaktylie***

Hlavním projevem jsou nepřírozně dlouhé a tenké prsty. Taktéž celé končetiny mohou být abnormálně dlouhé a tenké. Vyskytuje se i jako součást různých syndromů [3].

➤ ***Marfanův syndrom***

Mezi příznaky patří arachnodaktylie, nadměrný vzrůst, dlouhý a úzký obličej s prominujícím nosem, dlouhé a tenké končetiny. Vyskytují se srdeční vady [25].

4.2 GONOSOMÁLNĚ DĚDIČNÉ CHOROBY

Gonozomálně dědičné choroby jsou vázány na gonozomy. V drtivé většině se jedná o choroby vázané na chromozom X. Gonozomálně recesivní choroby postihují většinou muže. Ženy jsou častěji přenašečkami a jen zřídka jsou samy postiženy. Gonozomálně dominantní choroby postihují obě pohlaví, postižený otec nemůže předat nemoc svému synovi, zatímco všechny jeho dcery budou postiženy [25].

➤ *Hemofilie*

Jedná se o vrozenou poruchu krevní srážlivosti. Rozlišujeme hemofilii A, podmíněnou dysfunkcí faktoru srážlivosti VIII, a hemofilii B, způsobenou nedostatkem faktoru IX. Klinicky jsou oba typy stejné, projevují se krvácením do měkkých tkání, svalů i kloubů. Doba krvácení je prodloužena [3].

➤ *Svalové dystrofie*

Duchennova a Beckerova svalová dystrofie jsou X-vázané poruchy syntézy dystrofinu, což je jeden ze strukturních proteinů svalových tkání. U postižených se v raném dětství projeví svalová slabost, která má progresivní charakter a omezuje motoriku jedince. Charakteristickým projevem jsou hypertrofická lýtka.

Duchennova svalová dystrofie má závažnější prognózu, úbytek hybnosti je rychlý a postižení umírají kolem 20. roku života na srdeční nebo respirační selhání.

Beckerova svalová dystrofie má mírnější a více variabilní průběh [25].

5. POLYGENNĚ DĚDIČNÉ VROZENÉ VÝVOJOVÉ VADY

Jedná se o patologické stavy, na jejichž vzniku se společně podílí větší počet genů a faktory zevního prostředí. Lze sem zařadit například poruchy uzávěru neurální trubice, vrozené vývojové vady srdce, rozštěpy dutiny ústní, luxace kyčelního kloubu [35].

5.1 DEFEKTY NEURÁLNÍ TRUBICE

➤ *Spina bifida*

Patří mezi poruchy vývoje neurální trubice, ze které vzniká CNS.

Rozštěp páteře- porucha splynutí obou polovin obratlového oblouku, což může mít za následek prolaps obsahu páteřního kanálu. Existují dvě formy, lehčí, uzavřená forma Spina bifida occulta a těžší, otevřená forma Spina bifida cystica, která již postihuje i míchu. K nejzávažnějším komplikacím patří hydrocefalus a možnost infekce nervové soustavy. Prognóza závisí na míře i místě postižení míchy [35].

➤ *Anencefalus*

Anencefalie je další typ postižení neurální trubice, který se vyznačuje různě velkou absencí mozku a v extrémním případě i míchy. Součástí jsou často malformace dalších orgánů (končetin, zažívacího traktu...). Setkáváme se s deformitami lebky (acrania- chybění calvy). Jde o vadu neslučitelnou se životem, postižení jedinci se rodí mrtví nebo umírají během několika hodin až dní po narození. Dědičnost není zcela známa, nejpravděpodobnější je multifaktoriální dědičnost, uvažuje se i o autozomálně recesivní či X-vázané dědičnosti [35].

➤ ***Encefalokéla***

Taktéž jde o defekt neurální trubice, ale tentokrát jsou poškozeny membránové i kostěné obaly, které obalují mozek. Část mozku se tímto defektem dostává skrze lebku v útvaru krytém kůží i mozkovými plenami. Často je tato vada spojená s mikrocefalií (abnormálně malou calvou), poměrně častý je i hydrocefalus [35].

➤ ***Hydrocefalus***

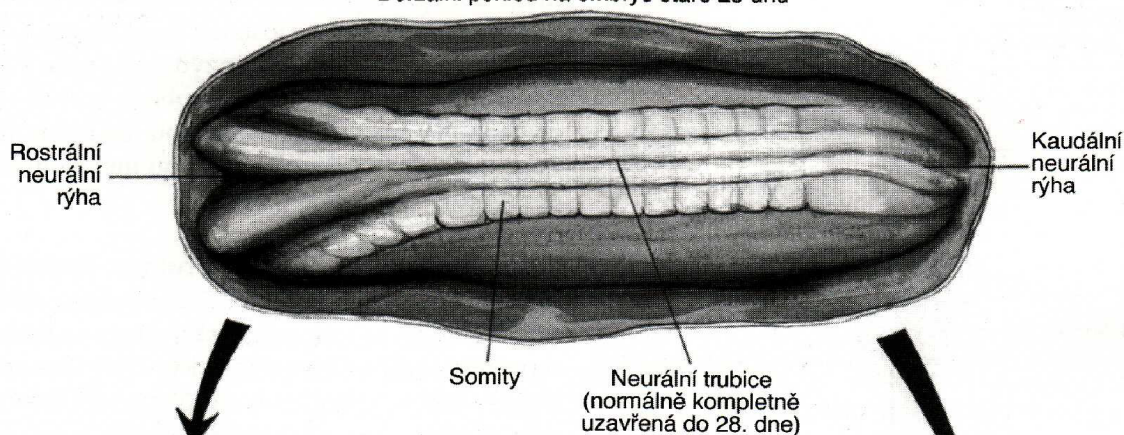
Hydrocefalus je vrozená vada charakterizována nahromaděním většího množství mozkomíšního moku v komorovém systému mozku (hydrocefalus internus) nebo mezi mozkiem a tvrdou plenou mozkovou (hydrocefalus externus). To je často spojeno s deformitami lebky, sekundárně se zvětšuje velikost hlavičky plodu a dochází k poškození dalšího vývoje mozku (atrofie mozku). Existuje řada příčin vzniku. Vrozený hydrocefalus se může vyskytovat samostatně nebo jako součást různých syndromů. Může být zapříčiněn i prodělanými infekcemi během těhotenství (toxoplasmóza) nebo zvýšenou sekrecí mozkomíšního moku [35].

Nejvyšší riziko defektů neurální trubice mají plody matek nejmladších a nejstarších věkových skupin a matek s nižší socioekonomickou úrovní [35].

Podávání kyseliny listové v dávce 0,4-4 mg/denně nejméně 3 měsíce před oplodněním snižuje riziko vývoje defektů neurální trubice [35].

DEFEKTY UZÁVĚRU NEURÁLNÍ TRUBICE

Dorzální pohled na embryo staré 23 dnů



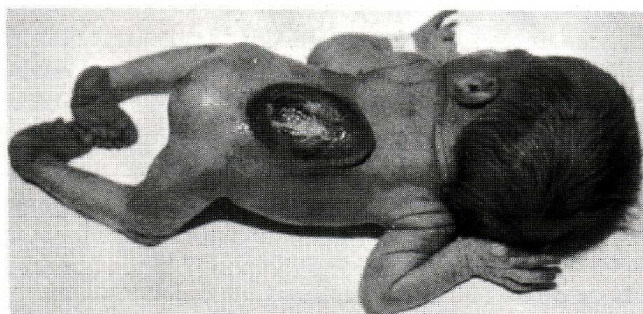
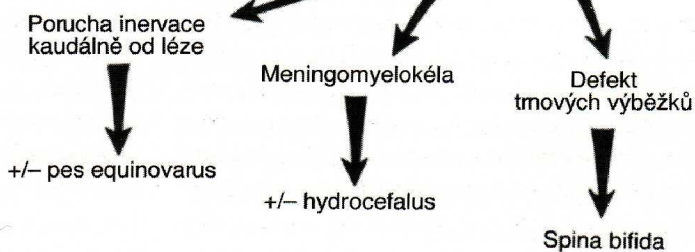
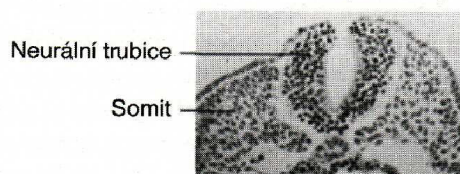
DEFEKTY UZÁVĚRU PŘEDNÍ NEURÁLNÍ TRUBICE

1. Nedokončený vývoj mozku s degenerací
2. Nedokončený vývoj lebeční klenby
3. Anomálie obličeje +/- boltce



Anencefalie

DEFEKT UZÁVĚRU



Meningomyelokéla s částečně epitelializovaným vakem

(obr. 3 defekty uzávěru neurální trubice [13])

5.2 VROZENÉ VÝVOJOVÉ VADY SRDCE

VVV srdce jsou jedny z nejčastějších vůbec. Velmi častou vadou je defekt předsíňového nebo komorového septa, tyto defekty se však často ani neprojeví. K život ohrožujícím VVV srdce patří např. stenóza plicnice, transpozice velkých tepen nebo koarktace aorty [26].

➤ *Stenóza plicnice*

Vrozené onemocnění srdce, při kterém je ztížen odtok krve z pravé části srdce a může vést k jeho rozšíření a následnému selhání. Mírné stenózy nedělají žádné potíže a šelest bývá odhalen náhodou. Naopak těžké stenózy již v kojeneckém věku mohou výrazně zhoršovat zdravotní stav [1].

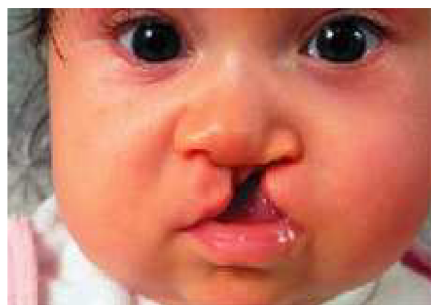
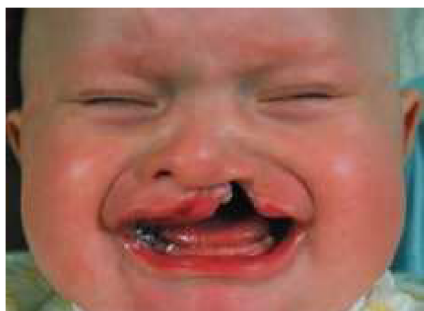
➤ *Koarktace aorty*

Jde o vrozené zúžení největší tepny v těle, aorty, které se může nacházet v různých úsecích cévy a nabývat různého stupně závažnosti [36]. Na tepnách horní poloviny těla může být naměřen vyšší tlak krve než v dolní polovině těla [11]. Vyskytuje se dvakrát častěji u chlapců než u děvčat. V 70% případů je spojeno s vadou srdeční aortální chlopně. V některých případech je onemocnění spojeno i s dalšími příznaky a je pak součástí komplexních syndromů, například se může vyskytovat u Turnerova syndromu [36].

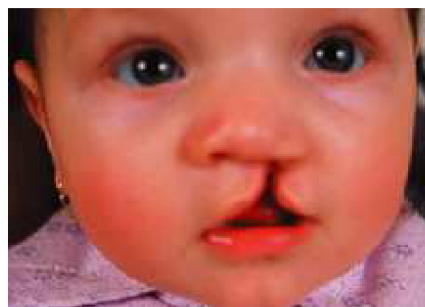
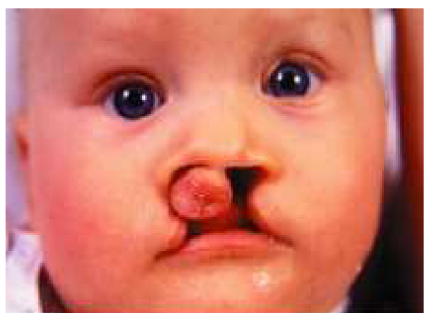
5.3 ROZŠTĚPOVÉ VADY

Rozštěpové vady obličeje u člověka patří k nejčastějším vrozeným vadám a díky své lokalizaci v obličeji i k vadám nejnápadnějším. Nazýváme je rozštěpy, neboť v horním rtu, čelisti nebo na patře je patrná šterbina způsobená tkáňovým defektem [14]. Z pohledu svislé osy obličeje může být postižení jednostranné nebo oboustranné. Pokud je rozpolcen ret, čelist i patro, pak mluvíme o rozštěpu úplném [10].

Na vzniku rozštěpových vad se asi z 20% podílí genetická predispozice, z 10% vlivy zevního prostředí a ve zbývajících 70% se příčina vzniku rozštěpu nezjistí. Pravděpodobně se jedná o interakci obou předcházejících vlivů [10].



(obr.4 jednostranný rozštěp celkový [10]) (obr. 5 jednostranný rozštěp [10])



(obr. 6 oboustranný rozštěp [10])

(obr. 7 rozštěp rtu [10])

6. EXOGENNĚ PODMÍNĚNÉ VADY

Působení určitých zevních vlivů (teratogenů) je prokazatelné asi u 10% vrozených vývojových vad. Rozsah a závažnost účinku teratogenu závisí do značné míry na stáří plodu, dávce a účinnosti teratogenu. Při zvažování rizika působení teratogenu je důležitý údaj o době jeho působení na plod. Kritické období zvýšené vnímavosti na teratogeny je mezi 3. - 9. postkoncepčním týdnem. Teratogenní faktory mohou být povahy fyzikální, chemické, biologické a metabolické [35].

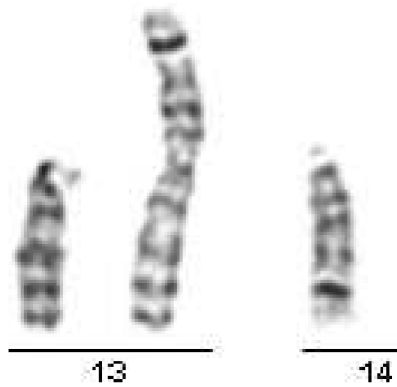
7. CHROMOZOMÁLNÍ VADY

Chromozomální vady tvoří přibližně 5% vrozených vývojových vad u novorozenců. 5,6-11,5% úmrtí před narozením je podmíněno chromozomálními aberacemi. Změny se mohou týkat počtu nebo struktury chromozomů [35].

Při *numerických odchylkách* se počet chromozomů odlišuje od normálního diploidního počtu (46) [18]. Tyto anomálie označujeme jako numerické (početní) aberace. Jsou dvojího typu: aneuploidie a polyploidie. Jako aneuploidie označujeme změny počtu jednotlivých chromozomů v sadě, polyploidie změny v počtu chromozomových sad [12].

- **Aneuploidie**- vzniká nondisjunkcí, tj. neoddělením homologních chromozomů v páru při meióze, ale také při mitóze. Chybí-li v diploidní buňce jeden chromozom, označujeme tento stav jako monosomii. Chybí-li oba chromozomy jednoho páru, jedná se o nullisomii. Má-li diploidní buňka jeden nadbytečný chromozom, odchylka se nazývá trisomie. Pokud splynou dvě gamety a obě mají nadbytečný týž chromozom, vzniká tetrasomie. Jestliže má organismus ve svých tkáních buňky s dvojitou chromozomovou výbavou, tento stav označujeme jako chromozomová mozaika [12]. Zvláštním typem je spojení dvou akrocentrických chromozomů do jednoho metacentrického nebo submetacentrického chromozomu [19]. Tento typ označujeme jako Robertsonovskou translokaci, u které výsledný karyotyp obsahuje 45 chromozomů. Nejčastější translokace jsou 13q14q a 14q21q [15].

U nosičů robertsonovských translokací existuje riziko narození potomka s trizomickým karyotypem.



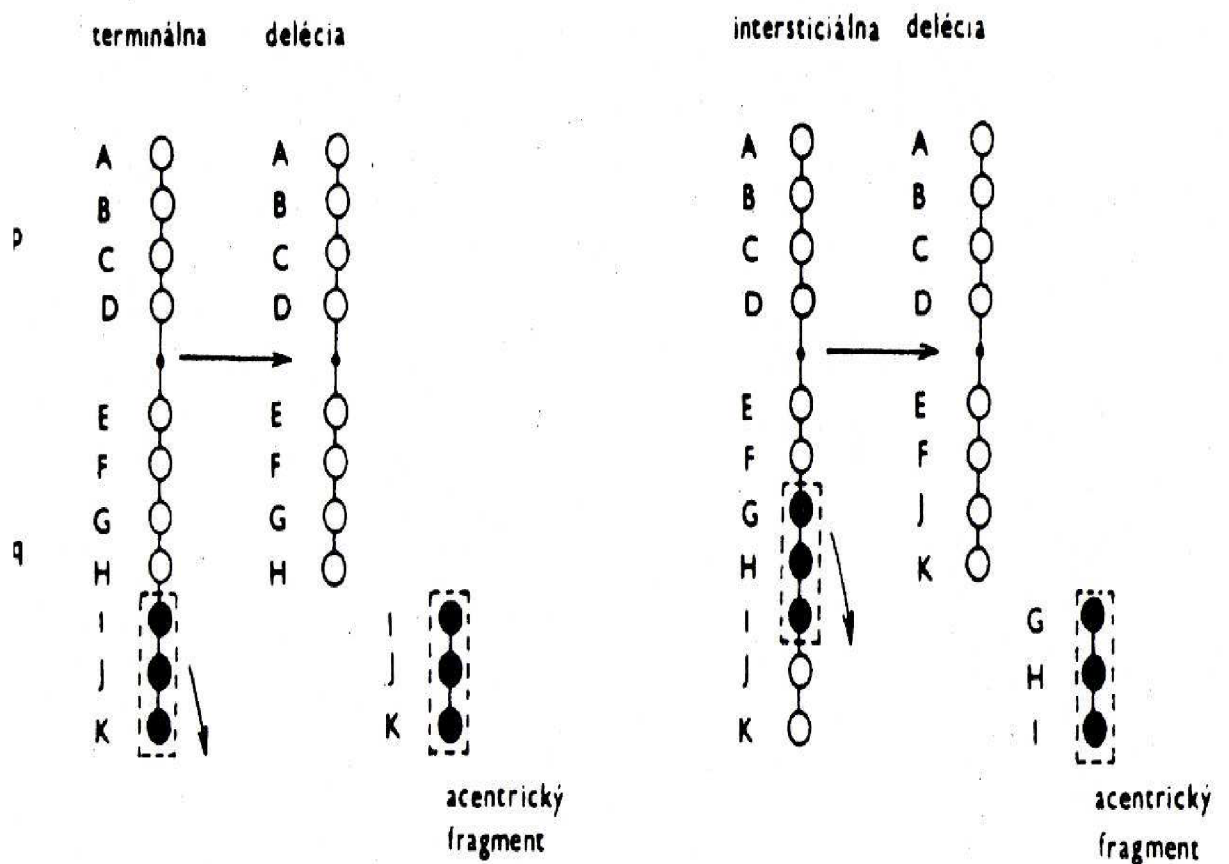
(obr. 8 Robertsonská translokace [5])

- **Polyploidie**- je stav, při němž je v buněčném jádře přítomen vyšší počet haploidních chromozomových sad než dvě, tj. 3 sady- triploidie, 4 sady- tetraploidie, 8 sad- oktoploidie aj. Vzniká tím způsobem, že dojde k replikaci chromozomů v S fázi, ale nedojde k mitóze a ani k cytokinezi [12].

Jako *strukturní aberace* chromozomů označujeme jejich přestavby, které jsou podmíněny vznikem zlomů na chromozomech. Množství genetického materiálu zůstává v karyotypu zachováno, ale mění se morfologie chromozomů, které do přestavby vstoupily.

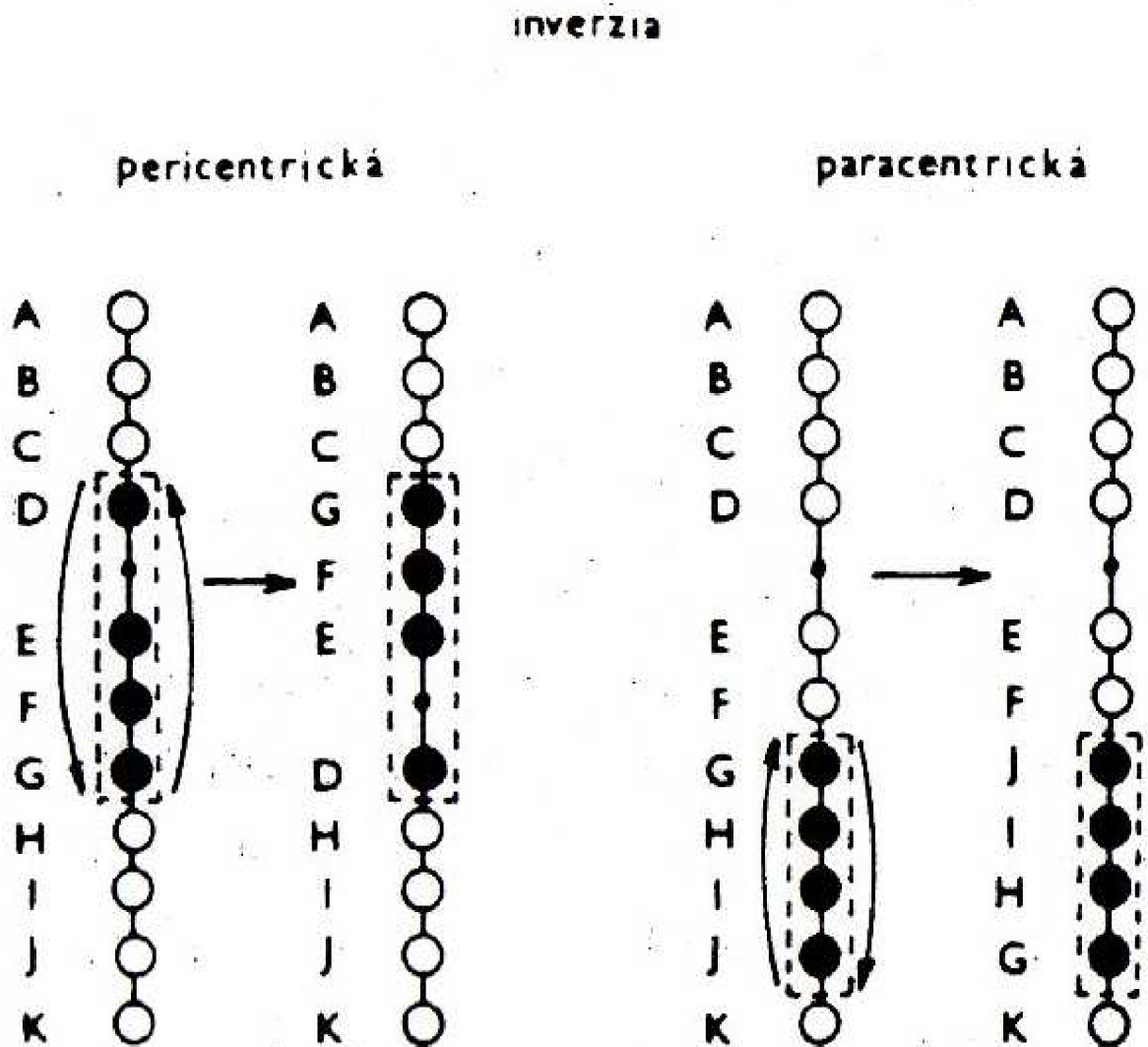
Mezi nejdůležitější strukturní aberace patří:

- **Delece**- ztráta úseku chromozomu. Pokud chybí koncový úsek chromozomu, jedná se o terminální delecii, která je podmíněna vznikem 1 zlomu na chromozomovém raménku. Jestliže je postižený intermediální segment, označujeme aberaci jako intersticiální delecii. K jejímu vzniku je nutný vznik dvou zlomů na chromozomu [5, 18].



(obr. 9 delece terminální, intersticiální [18])

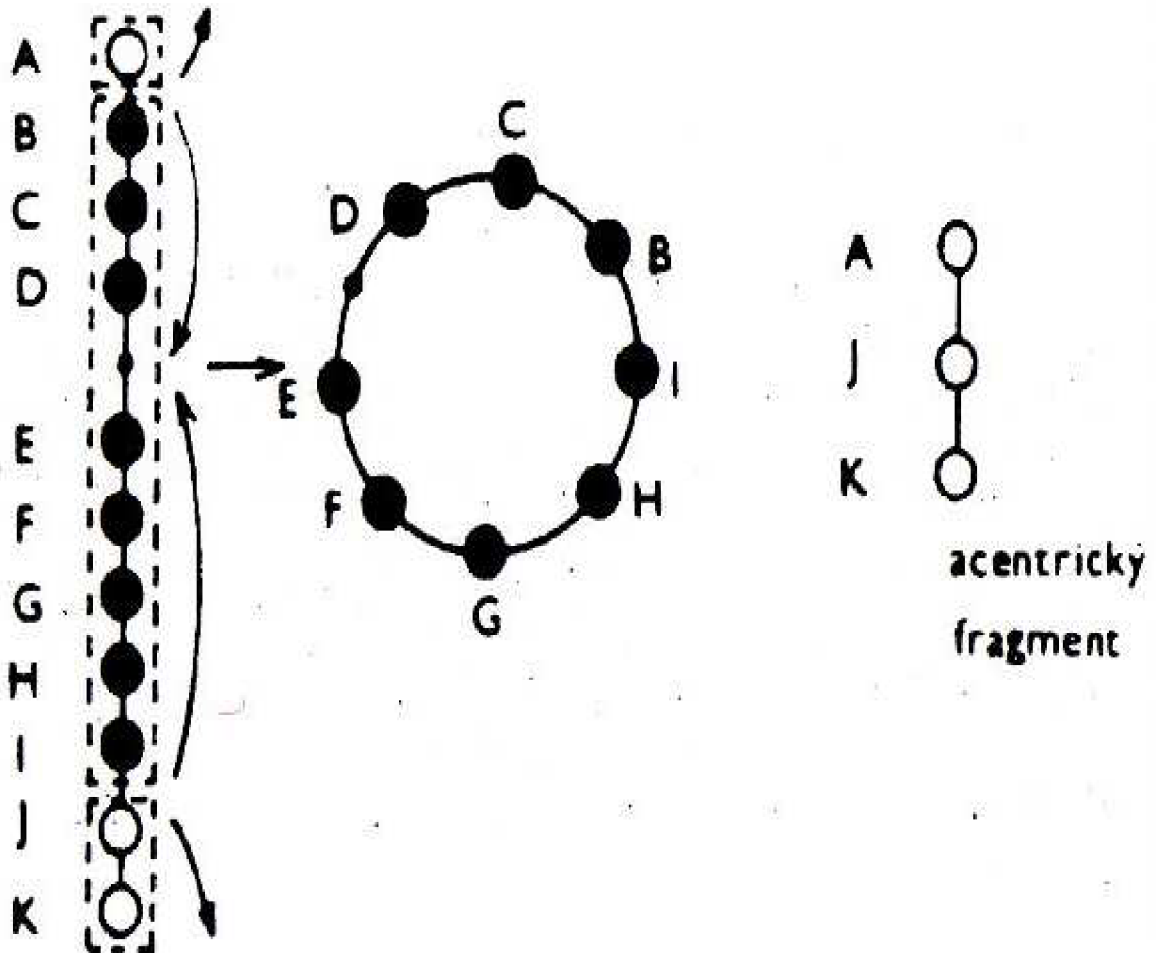
- **Inverze**- otočení segmentu chromozomu, který je ohraničen zlomy, o 180° . V tomto případě je chromozom zachován celý, ale invertovaný segment má obrácené pořadí jednotlivých lokusů. Jestliže se inverze týká úseku bez centromery, jedná se o paracentrickou inverzi, pokud centromera je součástí invertovaného úseku, přestavba se nazývá pericentrická inverze [18].



(obr. 10 inverze [18])

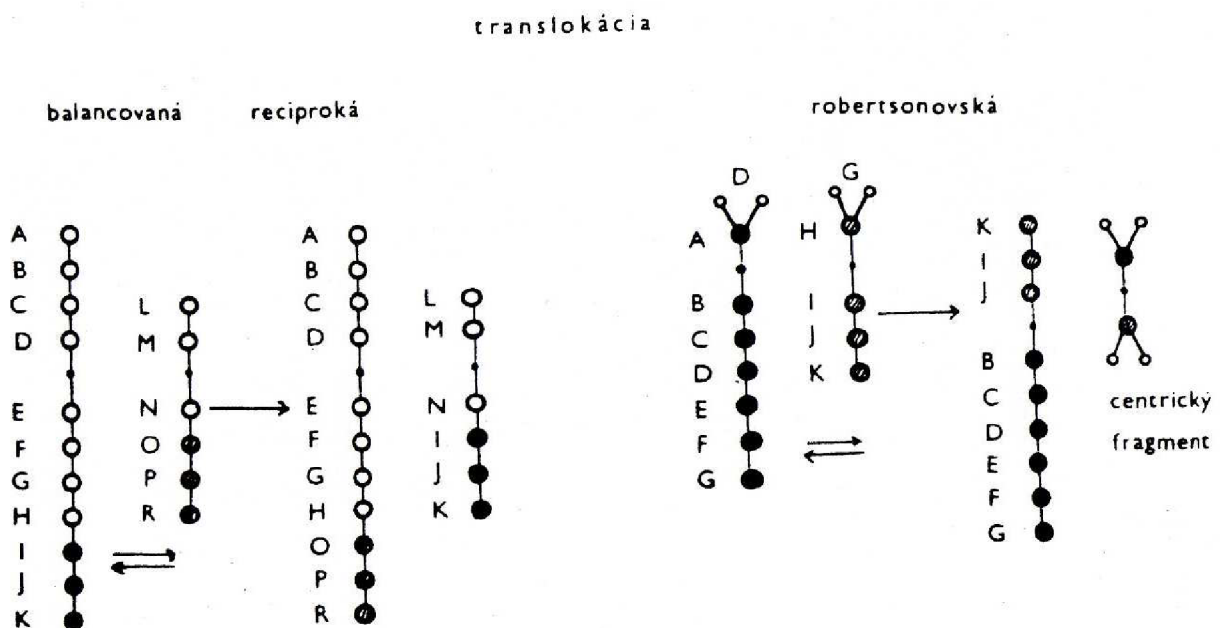
- *Prstencovitý chromozom (ring chromozom)*- na obou koncích chromozomu vzniknou zlomy a dojde ke ztrátě koncových úseků, zbytek chromozomu po spojení utvoří prstenec [18].

prstencovitý chromozóm



(obr. 11 prstencovitý chromozom [18])

- **Translokace**- je nejčastější ze strukturních aberací. Při jednoduché translokaci jde buď o přenos určitého segmentu v rámci stejného chromozomu z jedné lokalizace na jinou, a nebo o přenos segmentu jednoho chromozomu na jiný homologní nebo nehomologní chromozom. Při reciproké translokaci se navzájem vymění dva segmenty mezi homologními nebo nehomologními chromozomy [18]. Jestliže dojde ke zlomu dvou akrocentrických nehomologních chromozomů v místě centromery nebo v její blízkosti, mohou centrické fragmenty fúzovat a vznikne derivovaný chromozom (celkový počet chromozomů se tedy o jeden zmenší). Tato reciproká translokace se nazývá Robertsonovská fúze [12].



(obr. 12 translokace [18])

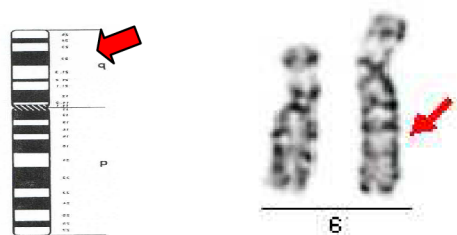
Translokace a inverze jsou aberace, při jejichž vzniku většinou nedochází ke zmnožení ani ztrátě chromozomového materiálu. Nazývají se vyvážené (balancované). Nejsou přítomny odchylky ve fenotypu. Strukturální aberace, které mají za následek chybění genetického materiálu (parciální monosomii) nebo jeho nadbytek (parciální trisomii), jsou provázeny odchylkami v klinickém obrazu a nazývají se nevyvážené (nebalancované) [18].

- **Inzerce**- jedná se o nerekiproký typ translokace. Segment z jednoho chromozomu se vyčlení a vloží do jiného chromozomu buď ve své původní orientaci nebo opačné. K vzniku jsou potřeba 3 body zlomu, 2 na jednom chromozomu a 1 na druhém. Výskyt přestavby je poměrně vzácný (1:80000) [5].



(obr. 13 inzerce chromozomu 6, 14 [5])

- **Duplikace**- vznikají nerovnoměrným crossing-overem nebo abnormální segregací v meióze [13].



(obr. 14 duplikace [5])

7.1 SYNDROMY SPOJENÉ S NUMERICKÝMI ODCHYLKAMI AUTOZOMŮ

Numerické aberace autozomů jsou nejčastějším letálním faktorem a ve většině případů způsobují odumření plodu, respektive zárodku už v děloze. V případě některých autozomů však plod může přežít. Celkový výskyt aberací autozomů se u živě narozených dětí udává s frekvencí 1:170 [18].

Za klinicky nejvýznamnější numerické aberace autozomů můžeme pokládat trisomie 21, 13, 18, 22 [18].

➤ *Downův syndrom*

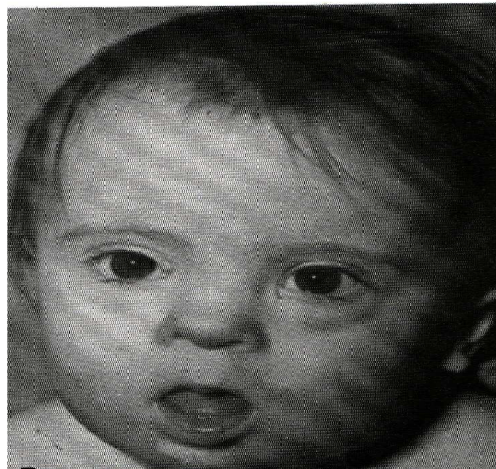
Příčinou Downova syndromu je trisomie 21. chromozomu [23]. V anglosaské literatuře je také označován jako mongolizmus, byl poprvé popsán Langdonem Downem v roce 1866 [35]. Děti s Downovým syndromem se rodí s frekvencí 1:700. Riziko výskytu Downova syndromu se prudce zvyšuje u matek nad 35 let věku [23]. Průměrný maximální věk postižených je 20-30 let, největšími riziky jsou případné vrozené vady srdce a zvýšené nebezpečí vzniku leukémie.

Manifestace: zpomalený vývoj, hypotonie, různý stupeň mentální retardace, IQ 25-50, malá zavalitá postava, kulatý obličej, mongoloidní oční štěrby, hypertelorismus, široký kořen nosu, malá ústa, velký jazyk, kožní řasa na zátylku, v dlani příčná „opičí“ rýha, vrozené srdeční vady, změněná funkce štítné žlázy, nemoci respiračního traktu, snížená imunita, poruchy zraku a sluchu.

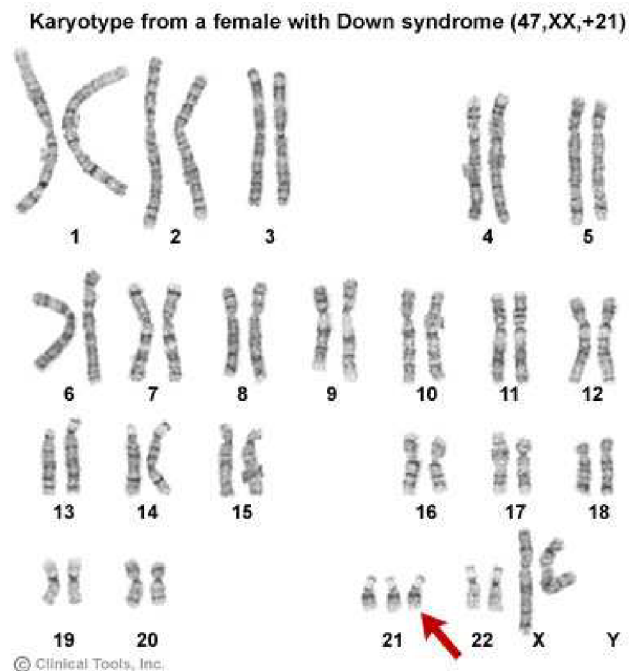
Terapie: Symptomatická- korekce srdeční nebo jiné vrozené vady, rehabilitace [2].

Prenatální diagnostika: Jedinou 100% diagnostickou možností je prenatální stanovení karyotypu plodu z plodové vody nebo fetální krve. Indikací k tomuto vyšetření je pozitivní biochemický screening [2].

Charakteristické změny lze zaznamenat i na UZ- prosáknutí záhlaví plodu, zkrácení femuru, růstová retardace [2].



(obr. 15 Downův syndrom [13])



(obr. 16 karyotyp Downův syndrom [29])

➤ ***Patauův syndrom***

Trisomie 13. chromozomu. U živě narozených dětí je výskyt 1:4000-1:10000. Častěji jsou postižena děvčata. Pacienti mají zkrácenou dobu života a do konce 1. roku umírá 86% [18].

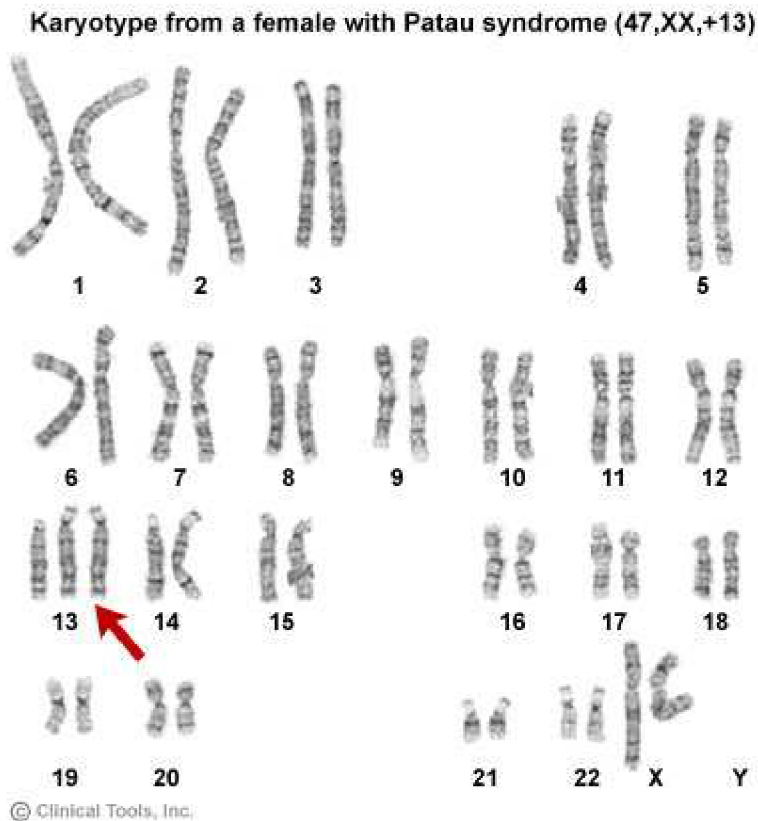
Manifestace: časté oboustranné rozštěpy rtu a patra, kožní defekty ve vlasaté části hlavy, vrozené vady mozku, hexadaktylie, anomálie obratlů, malformace ušních boltců, těžké vrozené vady vnitřních orgánů (srdce, ledviny, pohlavní orgány), hluchota, psychomotorická retardace.

Terapie: Basální péče [2].

Prenatální diagnostika: Biochemický screening, ultrazvukové vyšetření- mikrocephalie, dolichocephalie, držení končetin, hypotrofie. Prenatální stanovení karyotypu plodu [2].



(obr. 17 dítě s trisomií 13 [13])



(obr. 18 karyotyp Patauův syndrom [27])

➤ ***Edwardsův syndrom***

Příčinou je nadpočetný 18. chromozom, trisomie 18. Jedná se o druhou nejčastější chromozomální aberaci u živě narozených dětí. Celosvětově se udává výskyt u živě narozených dětí 1:7500. Ženské pohlaví je 4-krát častěji postižené než mužské. 90% postižených umírá do 6 měsíců po narození [18].

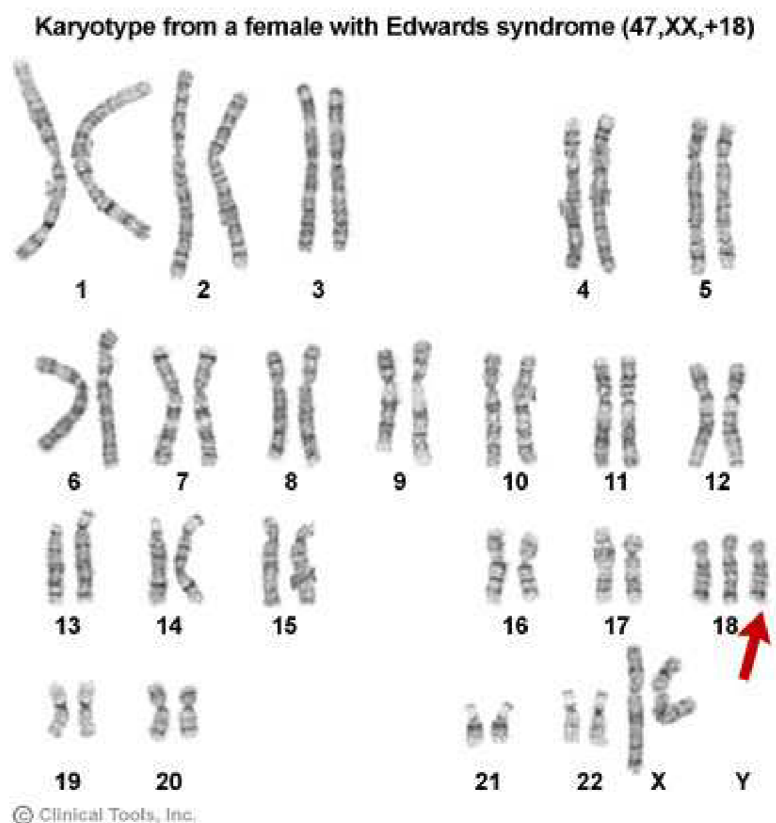
Manifestace: malformace některých vnitřních orgánů, malá ústa a nos, duševní zaostalost, prominující záhlaví, malformace ušních boltců. Typické je postavení prstů na ruce, kdy 2. a 5. prst jsou překříženy přes 3. a 4. prst.

Terapie: Zajistit novorozenci bazální péči (teplo, výživu, klid) [2].

Prenatální diagnostika: Biochemický screening, ultrazvukové vyšetření- mikrocephalie, dolichocephalie, držení končetin, hypotrofie. Prenatální stanovení karyotypu plodu [2].



(obr. 19 dítě s trisomií 18 [13])



(obr. 20 karyotyp Edwardův syndrom [28])

➤ **Trisomie 22**

Trisomie 22. chromozomu byla prokázána až po zavedení proužkovacích metod [18].

Manifestace: těžká psychomotorická retardace, mikrocefalie, rozštěp patra, svalová hypotonie, vrozené vady srdce.

➤ **Warkanyho syndrom**

Je charakterizován nadpočetným 8. chromozomem. U postižených osob vždy nacházíme mozaiku trisomie 8. chromozomu s normální buněčnou linií. Úplná trisomie je letální. Aberace vzniká většinou de novo [2].

Manifestace: psychomotorická retardace bývá mírná, je nápadný hrubší obličej se širokým kořenem nosu, gotické patro, nízko posazené dysplastické ušní boltce. Nápadné jsou dermatoglyfy- na dlaních i ploskách nohou je hluboké rýhování [2].

➤ **Rethore syndrom**

Nadpočetný 9. chromozom v karyotypu. Vzniká většinou de novo [2]. Vyskytuje se ve formě sporadické i familiární.

Manifestace: těžká psychomotorická retardace, retardace růstu a puberty, porucha koordinace pohybů a řeči, mikrocephalie, prominující nos, oční vady, velké, nízko posazené a dysplastické uši [2]. Hypotonie, hydrocefalus, vrozená srdeční vada, anomálie ledvin, rozštěp rtu, patra, nízká porodní hmotnost [20].

7.2 NUMERICKÉ ODCHYLKY GONOSOMŮ

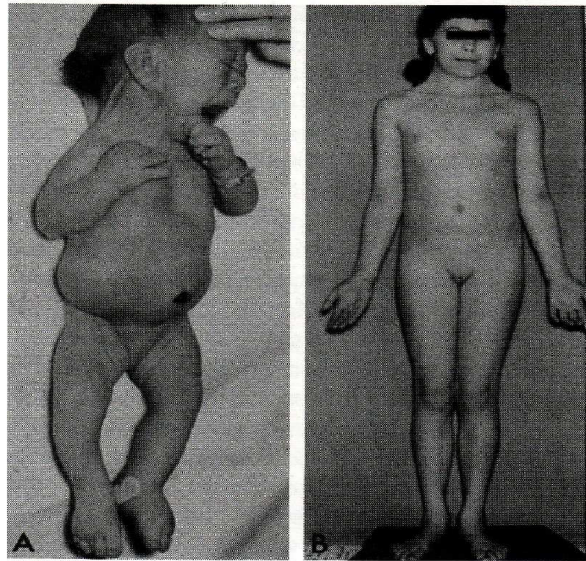
Numerické aberace gonozomů patří k nejčastějším genetickým poruchám u člověka. Celková incidence je přibližně 1 na 400 až 500 porodů. Nejčastějšími poruchami pohlavních chromozomů jsou u živě narozených dětí trisomie (karyotyp 47,XXX, 47,XXY, 47,XYY). Jsou rozmanitější a méně závažné než aberace autozomů. Mezi jejich hlavní projevy patří poruchy vnitřních a zevních genitálií. Pacienti s nadpočetnými chromozomy X často trpí mentální retardací. [13, 18].

➤ *Turnerův syndrom*

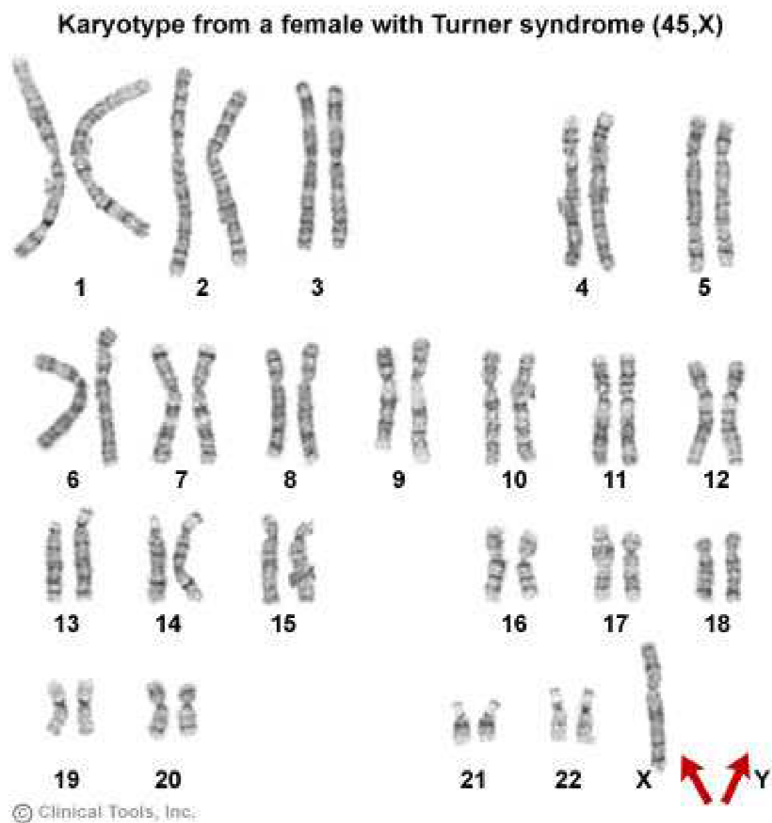
Monosomie chromozomu X. Velké množství případů tohoto syndromu končí spontánním potratem [23]. U živě narozených děvčat se vyskytuje s frekvencí 1: 25000.

Manifestace: nižší porodní váha a délka, nízká vlasová hranice, opožděný sexuální vývoj, malá postava, lymfedémy, stenóza aorty, VVV ledvin, štítovitý hrudník, laterálně uložené prsní bradavky, většinou sterilita, absence sekundárních pohlavních znaků.

Terapie: Rehabilitace, je nutná psychoterapie postižených a jejich rodin. Plastická úprava pterygií eventuelně zevního genitálu, hormonální substituce pohlavními hormony a růstovým hormonem [2].



(obr. 21 dívky s Turnerovým syndromem [13])



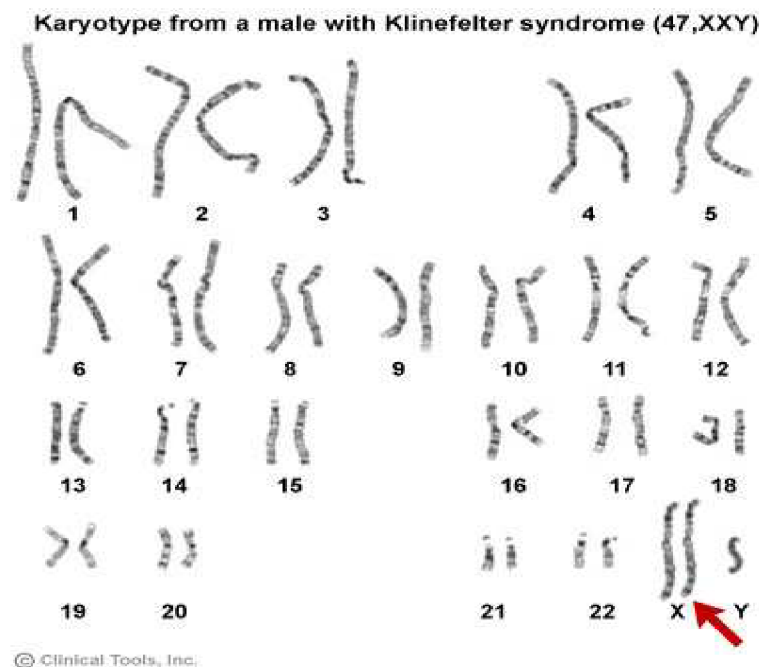
(obr. 22 karyotyp Turnerův syndrom [31])

➤ **Klinefelterův syndrom**

Podmíněno karyotypem 47,XXY. Klinefelterův syndrom je relativně častá gonozomová aberace u mužského pohlaví. Její výskyt u živě narozených chlapců je 1:670 [18].

Manifestace: opožděná puberta, vysoká eunuchoidní postava, porucha růstu vousů, ženská distribuce podkožního tuku, gynekomastie, chabé ochlupení, sterilita, aspermie.

Terapie: Plastická úprava gynekomastie, hormonální substituce testosteronem- prevence sekundárních komplikací, nejlepší účinky substituce jsou popisovány při započetí léčby již před nástupem puberty [2].



(obr. 23 karyotyp Klinefelterův syndrom [30])

➤ ***Superfemale***

Karyotyp 47,XXX. Syndrom s frekvencí výskytu přibližně 1:1000 živě narozených dívek.

Manifestace: mírná mentální retardace (avšak vzácně), omezená plodnost, způsobená nadpočetným chromozomem X. Většina případů není diagnostikována pro minimální fenotypový projev [23].

➤ ***Supermale***

Karyotyp 47,XYY. Výskyt přibližně 1:1000 živě narozených chlapců.

Manifestace: vysoký vzrůst nad 200 cm, poruchy reprodukce, vzácně mírná mentální retardace. Dřívější předpoklady o zvýšených sklonech k agresi nebyly potvrzeny. Většina případů není diagnostikována pro minimální fenotypový projev [23].

7.3 SYNDROMY SPOJENÉ SE STRUKTURÁLNÍMI ABERACEMI

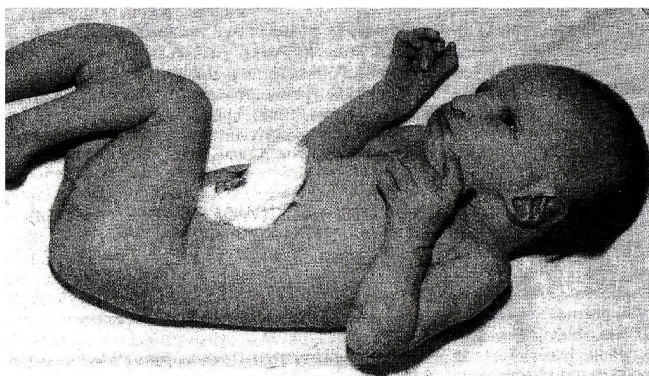
Strukturální aberace vzniká následkem změn struktury chromozomů. Předpokladem jejich vzniku jsou zlomy chromozomů, které se nereparují do původního stavu. Často představují duplikaci nebo deficit části genetického materiálu [19]. Mohou vznikat spontánně nebo v důsledku působení různých vnějších faktorů [23]. Ne všechny dysbalance v karyotypu pacientů musejí být zařazeny do kategorie syndrom. Řada nálezů vzniká jako následek balancované translokace rodiče nebo inverze u rodiče tak, že dítě zdědí nebalancovaný materiál [17].

Mezi nejčastější syndromy spojené se strukturálními přestavbami patří:

➤ *Syndrom Wolf-Hirshorn*

Postižení je způsobeno parciální (částečnou) delecí p-ramének chromozomu 4.

Manifestace: těžká mentální retardace, hypertelorismus, nízká porodní váha, rozštěpy rtu a patra, hruškovitý nos, kapří ústa, neprospívání, vývojové vady srdce, urogenitálního traktu. Smrt nastává v různém věku v dětství.



(obr. 24 syndrom Wolf-Hirshorn [18])

➤ ***Syndrom Cri du chat***

Syndrom kočičího křiku, který je způsoben delecí p-raménka chromozomu 5. Vyskytuje se s frekvencí přibližně 1:50000 až 1:100000 [23].

Manifestace: anomálie hrtanu způsobuje typický pláč podobný kočičímu mňoukání, malformované ušní boltce, mentální retardace, malý vzrůst, neprospívání, měsíčkovitý drobný obličej, vrozené vady srdce.

➤ ***De-Grouchy syndrom I***

Delece části krátkého raménka 18. chromozomu. Ve většině případů vzniká de novo.

Manifestace: kulatý obličej, plochý kořen nosu, široký nos, hypertelorismus, epikanty, katarakta, krátký horní ret, rozštěp rtu, patra, „kapří“ široká ústa, široký hrudník, skolióza, malý vzrůst, anomálie CNS, psychomotorická retardace, opožděný vývoj řeči, ekzém, lymfedém, hernie [20].

Prenatální diagnostika: Vyšetření karyotypu plodu.



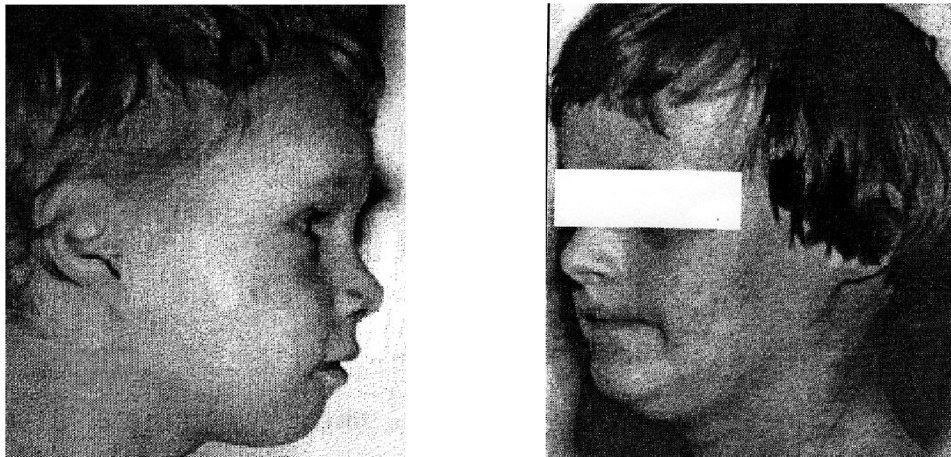
(obr. 25 De-Grouchy syndrom I [20])

➤ ***De-Grouchy syndrom II***

Jedná se o monosomii 18q, která vzniká v 80% de novo. Ve 20% lze u rodičů prokázat vyváženou translokaci nebo pericentrickou inverzi či mozaiku [20].

Manifestace: hypoplazie střední části obličeje, prominující boltce, hypotonie, mikrocefalie, krátký nos, epikanty, katarakta, rozštěp rtu, patra, syndaktylie, křeče, těžká mentální retardace, srdeční vady, hernie [20].

Prenatální diagnostika: Vyšetření karyotypu plodu.



(obr. 26 De-Grouchy II [20])

7.4 MIKRODELEČNÍ SYNDROMY

Syndromy jsou způsobeny chyběním (deleci) malých chromozomálních úseků. Jedná se tedy o strukturální aberace.

➤ *Prader-Willi syndrom*

Syndrom je způsoben delecí úseku 15q11-q13 na chromozomu paternálního původu.

Manifestace: hypotonie, hypotrofie, malá postava, hypogonadismus, psychomotorická retardace a přejídání, které způsobuje progresivní obezitu.

➤ *Angelmanův syndrom*

Příčinou onemocnění je delece úseku 15q11-q13 na chromozomu maternálního původu.

Manifestace: těžká mentální retardace, poruchy růstu a vývoje, epilepsie. Postižení jedinci mají „veselý“ výraz obličeje (syndrom je někdy označován jako happy puppet syndrome) a vykazují křečovitě neúčelné pohyby.

➤ *Di-Georgův syndrom*

Postižení vzniká v důsledku delece úseku 22q11.

Manifestace: vrozené srdeční vady, mentální retardace, malformace v obličejové krajině, absence thymu a příštítných tělísek.

[23]

➤ ***Syndrom Cornelia de Lange***

Specifická porucha způsobená nejčastěji delecí části dlouhého raménka 3. chromozomu. Výskyt 1:150 000 novorozenců [2].

Manifestace: nízká porodní hmotnost, retardace růstu, psychomotorická retardace, mikrocephalie, nízká vlasová hranice, husté a srostlé obočí, dlouhé řasy, hypertelorismus, rozštěp patra, časté jsou vrozené vady vnitřních orgánů.

8. ZÁKLADY KLINICKÉ CYTOGENETIKY

Lidská cytogenetika je poměrně mladý vědní obor, jehož počátky souvisí se zavedením a zdokonalením pěstování lidských tkání in vitro na samém počátku minulého století. Kvalitní tkáňové kultury umožnily získat dostatečné množství buněk proliferujících v umělém prostředí [2].

Významným objevem, který vedl ke stanovení přesného počtu lidských chromozomů, bylo použití hypotonického roztoku v roce 1951 [2].

Dalším důležitým krokem byl objev působení fytohemaglutininu na stimulaci mitotického dělení lymfocytů periferní krve [2].

V roce 1960 vznikla tzv. Denverská nomenklatura lidských chromozomů, podle níž byly chromozomy rozděleny do 7 základních skupin [2].

Na konci 60. let byly objeveny pruhovací techniky, které vedly k přesné identifikaci jednotlivých chromozomů a v roce 1971 na Pařížské konferenci již byl předložen karyotyp člověka v dnešní podobě. Od té doby dochází ke zdokonalování barvicích metod a zavádění nových speciálních postupů, které jsou schopny odhalit i velmi jemné detaily chromozomů [2].

Klinická cytogenetika se zabývá analýzou chromozomů (jejich počtem a morfologií), jejich segregací v meióze a mitóze a vztahem mezi nálezy chromozomových aberací a fenotypovými projevy [5].

Vznik moderní lidské cytogenetiky se datuje od roku 1956, kdy Tjio a Levan vyvinuli efektivní metodiky chromozomální analýzy a stanovili, že normální počet lidských chromozomů je 46 [5].

8.1 STRUKTURA CHROMOZOMŮ

Každý chromozom se skládá z jedné nebo dvou velmi dlouhých molekul dvoušroubovicové DNA (v závislosti na fázi buněčného cyklu) asociované s proteiny a RNA. Tyto tři složky vytvářejí hmotu známou pod názvem chromatin. Chromozomy jsou během interfáze buněčného cyklu rozptýleny uvnitř jádra, ale během mitózy nebo meiózy se mění v kompaktní struktury. V jaderné hmotě můžeme rozlišit slabě zbarvené oblasti tvořící euchromatin od silně zbarveného heterochromatinu. Během buněčného dělení je euchromatin kompaktní, ale v interfázním jádře se rozvolňuje a vytváří otevřenou strukturu [15].

Heterochromatin je během buněčného dělení výrazněji zhuštěn a v kompaktním stavu přetrvává i během interfáze. Je více koncentrován v periferních oblastech jádra a jadérka a jeho transkripční aktivita je relativně nízká [15]. Konstitutivní heterochromatin je chromatin, který zůstává v kondenzovaném stavu a nepřepisuje se do RNA po celý buněčný cyklus ve všech buňkách a vývojových stádiích organismu. Vyskytuje se v centromerách i telomerách mitotických chromozomů. Fakultativní heterochromatin vzniká kondenzací chromatinových oblastí, které se v určitém období vyskytují v euchromatinovém stavu. Geny, které se nacházejí v euchromatinovém chromozomu se již přepisují [16].

V časných fázích mitózy můžeme pozorovat, že každý chromozom je tvořen dvěma identickými strukturami, které označujeme jako sesterské chromatidy [15]. Ty jsou spolu spojeny v centromeře, oblasti DNA, která je asociována s řadou specifických proteinů, a vytváří kinetochor. Tento komplex je místem připojení mikrotubulů dělicího vřeténka ke každému chromozomu, řídících pohyb chromozomů během mitózy. Konce každého chromozomu jsou ohraničeny telomerami, které obsahují speciální DNA sekvence zajišťující integritu chromozomu během buněčného dělení [13].

8.2 MORFOLOGIE CHROMOZOMŮ

Podle umístění centromery dělíme lidské chromozomy na:

- metacentrické- centromera dělí chromozom na přibližně stejně dlouhá ramena
- akrocentrické- centromera je posunuta blízko k jednomu konci chromozomu
- submetacentrické- centromera se nachází mimo střed chromozomu a dělí jej na krátká a dlouhá raménka
- telocentrické- centromera je umístěna na jednom konci chromozomu, nevyskytuje se v normálním karyotypu, pouze při chromozomových přestavbách

Označení ramen chromozomů:

- krátké raménko = p
- dlouhé raménko = q

Lidské chromozomy se dělí podle velikosti a tvaru do sedmi skupin, značených A-G, podle velikosti se číslují od 1. do 22. páru, gonosomy se řadí samostatně [8].

Skupina A= 1-3

B= 4-5

C= 6-12

D= 13-15

E= 16-18

F= 19-20

G= 21-22

8.3 ANALÝZA CHROMOZOMŮ

Mikroskopickým studiem chromozomů se zabývá cytogenetika. Běžně pozorujeme chromozomy zhruba při 1000 násobném zvětšení, což umožňuje rozlišení kolem 3 milionů párů bází, které tvoří jeden úzký chromozomový proužek. Aplikací molekulárních technik lze rozsah hodnotitelného úseku zkrátit až na 10 kb [15].

Ve světelném mikroskopu lze vidět změny o určité velikosti. Rozlišovací schopnost světelného mikroskopu je 0,2 μm . Změny, které jsou menší vidět nelze, protože jsou pod rozlišovací schopností této metody. Menší změny určujeme pomocí molekulárně genetických (např. PCR) nebo molekulárně cytogenetických (FISH) metod. PCR metodu lze využít pro přímou detekci mutací a metodu FISH pro detekci trisomií, monosomií, translokací, mikrolečních syndromů a jiných chromozomových aberací [19].

Metafázní chromozomy lze získat z různých materiálů- periferní krev, fetální krev, plodová voda, choriové klky, kostní dřeň, solidní nádory, kůže. Doba kultivace je různá a liší se podle použitého materiálu [5].

Molekulární cytogenetika využívá DNA-sondy, které lze přímo aplikovat na interfázní jádra i na metafázní chromozomy [15].

8.3.1 KARYOTYP – PŘÍPRAVA PREPARÁTŮ A HODNOCENÍ

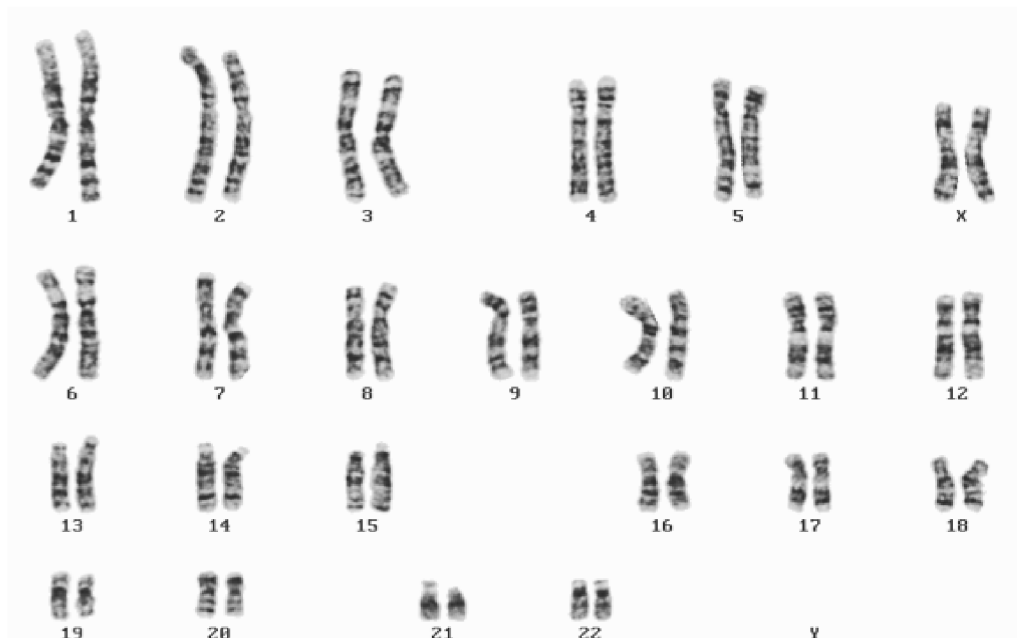
- Nejdostupnějším materiálem pro přípravu mitotických preparátů jsou lymfocyty z periferní krve.
- Předností těchto buněk je snadná dostupnost a krátká doba kultivace.
- Periferní krev se odebírá do heparinu, aby se zabránilo vysrážení.
- Kultivace za účelem stanovení karyotypu trvá 72 hodin.
- Podmínkou kultivace lymfocytů je přítomnost fytohemaglutininu v kultivačním mediu.
- Fytohemaglutinin stimuluje přechod lymfocytů z klidové fáze k dělení.

Pro vizuální hodnocení získáváme metafázní chromozomy přidáním inhibitoru dělicího vřeténka kolchicinu. Po kultivaci buněk zastavíme jejich dělení v metafázi, mitózy po hypotonizaci a fixaci nakapeme v suspenzi na podložní sklo a obarvíme Giemsovým barvivem. Dříve byly při mikroskopickém hodnocení jednotlivé mitózy fotografovány a ze získaných fotografií vystřihávány obrázky jednotlivých chromozomů. Ty se pak na zvláštním listě řadily podle velikosti do jednotlivých chromozomových párů a skupin A-G. V moderní praxi je poslední fáze vyšetření nahrazena digitálním snímáním a analýzou mikroskopického obrazu. Chromozomy 1, 3, 16, 19, a 20 mají centromeru uprostřed- jsou metacentrické. U chromozomů 13, 14, 15, 21 a 22 leží centromera velmi blízko jednoho konce- označujeme je jako akrocentrické. Zbývající chromozomy jsou submetacentrické [2, 5, 15].

8.3.2 ZÁPIS KARYOTYPU

Zápis karyotypu se liší u žen a mužů. Ženy mají v chromozomové sestavě 2 chromozomy X. Zápis jejich karyotypu je 46,XX. U normálního muže nacházíme jeden chromozom X a jeden chromozom Y, proto karyotyp zapisujeme 46,XY [15].

Poloha genů na raménkách chromozomů je definována číslem oblasti a dále čísla pruhu, podpruhu a pod-podpruhu [15].



(obr. 27 karyotyp ženy [34])

8.3.3 METODY MOLEKULÁRNÍ CYTOGENETIKY

Molekulární cytogenetika aplikuje metody molekulární biologie na cytogenetické úrovni, vizualizuje a lokalizuje genetický materiál na buňkách. Pracuje s metafázními chromozomy nebo interfázními jádry, potvrzuje a upřesňuje nálezy klasické cytogenetiky (translokací, delecí, inzercí...) [5].

Využití:

- analýza chromozomů z periferní krve- pouze vrozené chromozomové aberace
- analýza chromozomů z ostatních materiálů (plodová voda, krev plodu, kostní dřeň, solidní tumory...)

Molekulárně cytogenetickými technikami nelze v plném rozsahu nahradit klasické karyotypování.

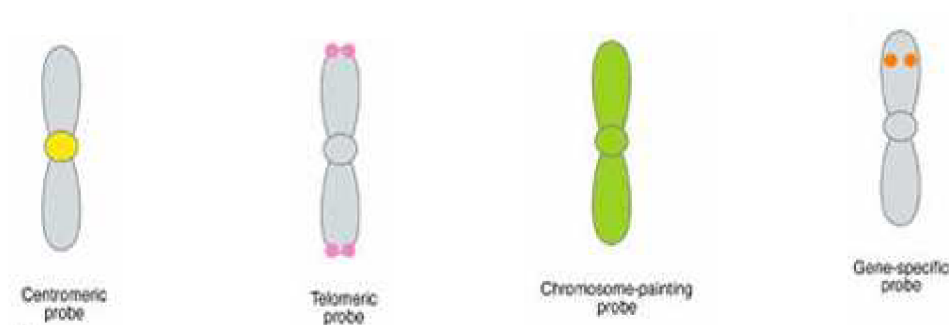
- ISH (in situ hybridizace)- technika, která se využívá k detekci a lokalizaci specifické DNA sekvence na chromozomech. Používají se značené hybridizační sondy (próby), které se komplementárně vážou k cílové sekvenci DNA na mikroskopickém skle. Sonda může být značená radioaktivně, fluorescenčně nebo enzymem.
- FISH- metoda, ve které se k vyšetření používá sonda značená fluorescenčním barvivem. Výhoda metody spočívá v tom, že je citlivější než běžná cytogenetická vyšetření. Vyhodnocení a zpracování signálu provádíme pomocí fluorescenčního mikroskopu, který je napojen na počítač.

- SKY (spektrální karyotypování)- je významnou aplikací metody FISH, k obarvení se používá soubor 24 různých celochromozomových malovacích sond, které jsou označeny odlišnými fluorescenčními barvivy [13].

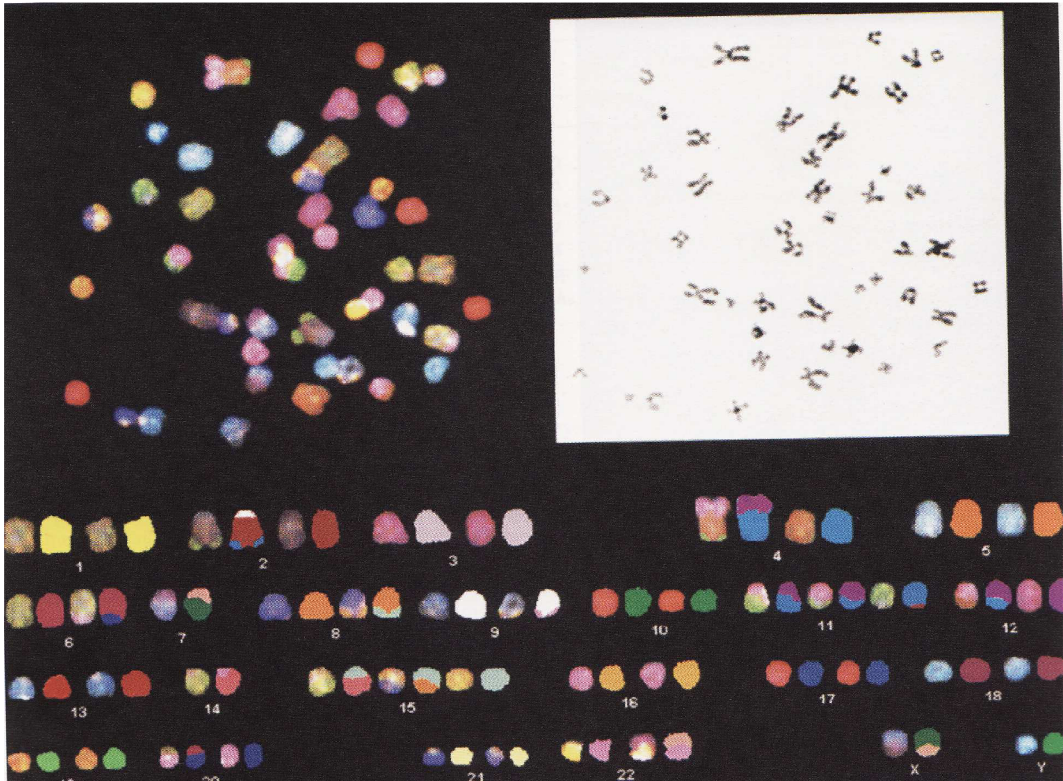
Sondy, které se používají ke značení, dělíme na:

- celogenomové- směs úseků DNA, které se vážou na všechny chromozomy
- celochromozomové (malovací) sondy- směs mnoha sond specifických pro sekvence konkrétního chromozomu, které označí chromozomy po celé délce
- centromerické sondy- vážou se na centromeru
- telomerické sondy- vážou se na telomery
- lokus specifické sondy- se vážou na specifickou oblast chromozomu (gen, část genu)

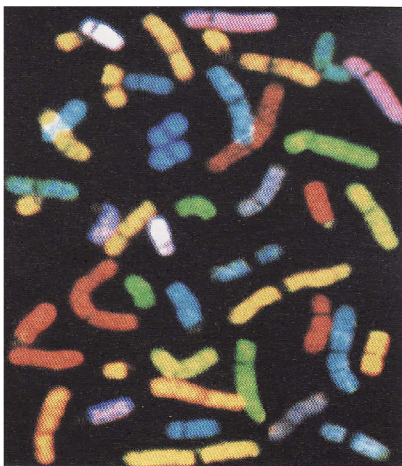
[5, 7]



(obr. 28 sondy [5])



(obr. 29 SKY [13])



(obr. 30 SKY, 46,XX [13])



(obr. 31 FISH, detekce telomer [13])

9. PRUHOVACÍ A BARVÍCÍ TECHNIKY

Rozhodujícím krokem ve vývoji lidské cytogenetiky bylo objevení a postupné zdokonalování pruhovacích metod, které umožnily přesné rozlišení všech chromozomů člověka. V současné době nejpoužívanější metody je možno rozdělit do dvou skupin:

- pruhovací metody, které diferencují chromozom po celé jeho délce- Q, G, R
- metody, které barví určité části chromozomu- C, NOR

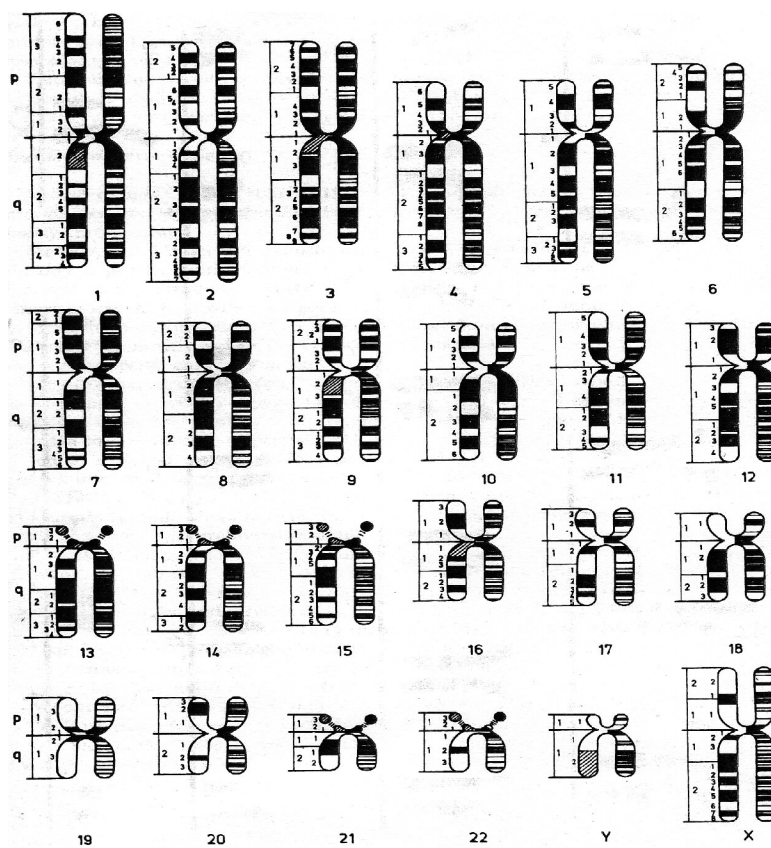
[2]

9.1 PRUHOVACÍ METODY

- **Q pruhy**- fluorescenční metoda založená na barvení chinakrinem. Pozorováním ve fluorescenčním mikroskopu je dosaženo typických světlých a tmavých pruhů na chromozomech, které slouží k jejich identifikaci. Světlé pruhy představují oblasti DNA bohaté na adenin - thymin, tmavé na guanin - cytosin [2].
- **G pruhy**- nespornou výhodou této metody je trvalá a neměnná kvalita preparátů. Střídání tmavých a světlých pruhů na chromozomech je dosaženo působením trypsinu a následným barvením Giemsovým barvivem [2].
- **R pruhy**- metoda je založena na působení vysoké teploty (85°C) a následném barvení akridinovou oranží nebo Giemsovým barvivem [2].

9.2 BARVÍCÍ METODY

- **C pruhy-** metoda je selektivně využívána k zvýraznění konstitutivního heterochromatinu. Mechanismus vzniku C-pruhů souvisí se selektivní extrakcí chromozomální DNA z oblastí euchromatinu [9].
- **NOR barvení-** metoda se využívá především při sledování variant sekundární konstrikce [2].



(Obr. 32 chromozomy při použití Q, G a R barvicích metod [4])

10. SPECIÁLNÍ METODY

- **Metoda HRT** (high resolution technique)- je založena na získání velmi dlouhých, natažených, málo kondenzovaných chromozomů. Principem metody je synchronizace buněčného dělení a jeho zastavení v prometáfázi [2].
- **Fragilní-X**- jedná se o konstrikci na chromozomu X v oblasti Xq27.3 s projevy mentální retardace u jedinců mužského pohlaví. Průkaz fragilního X je založen na kultivaci buněk v mediích s nízkým obsahem kyseliny listové [2].
- **FISH** (fluorescenční in situ hybridizace)- umožňuje specifickou lokalizaci genů a přímou vizualizaci aberací na molekulární úrovni. Pomocí sond specifických pro jednotlivé chromozomy provádíme rychlou diagnózu nebo vyloučení trisomie v buňkách amniové tekutiny [15].

11. INDIKACE K CHROMOZOMÁLNÍMU VYŠETŘENÍ

Cytogenetické vyšetření lze doporučit v následujících situacích:

- předpokládaná chromozomální abnormalita
- mnohočetné vrozené anomálie anebo vývojová retardace
- poruchy funkce gonád
- neobjasněná mentální retardace
- výskyt určitých malignit
- infertilita nebo opakované potraty
- narození mrtvého plodu nebo úmrtí novorozence

[15]

12. PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA

Počátky prenatální diagnostiky se datují do roku 1966, kdy Steele a Breg ukázali, že chromozomální konstituci plodu lze určit analýzou kultivovaných buněk z plodové vody. Prenatální diagnostika zahrnuje nezbytnou spolupráci více lékařských oborů: porodnictví, ultrasonografie, specializovaných laboratoří a klinické genetiky ke stanovení diagnóz a k odhadu rizika pro genetické poradenství [13].

Účelem prenatální diagnostiky není pouze objevit odchylky ve vývoji plodu a umožnit ukončení těhotenství v případě, že je u plodu objevena vada [13].

Cílů je více a jsou to:

- poskytnout párům s rizikem narození dítěte s vadou možnost informovaného výběru dalšího postupu
- poskytnout uklidnění a zmírnit úzkost, obzvláště ve skupinách s vysokým rizikem
- umožnit párům s rizikem narození dítěte s konkrétním postižením, které by se jinak mohly vzdát snahy o vlastní děti, možnost otěhotnět s vědomím, že to, zda plod je, či není postižen, lze ověřit již před narozením
- poskytnout párům v situaci před narozením postiženého dítěte optimální volbu postupů z hlediska psychologické přípravy, péče o těhotenství, vedení porodu a postnatální péče
- umožnit prenatální léčbu postiženého plodu [13]

Mnohá onemocnění dosud prenatalně diagnostikována být nemohou, ale na seznam těch, u nichž je prenatalní vyšetření možné, přibývají další. Následující tabulka uvádí častější monogenní onemocnění, pro něž je v mnoha rodinách možná prenatalní diagnostika vyšetřením DNA [13].

Onemocnění	Dědičnost
Achondroplázie	AD
Autozomálně dominantní polycystické ledviny	AD
Huntingtonova choroba	AD
Myotonická dystrofie	AD
Neurofibromatóza, typ 1	AD
Retinoblastom	AD
Cystická fibróza	AR
Kongenitální adrenální hyperplázie	AR
Friedreichova ataxie	AR
Fenylketonurie	AR
Srpkovitá anémie	AR
Spinální muskulární atrofie	AR
Tay-Sachsova choroba	AR
α - a β -talasémie	AR
Duchenneova a Beckerova muskulární dystrofie	X-vázaná
Syndrom fragilního X	X-vázaná
Hemofilie A a B	X-vázaná
Deficience ornitin transkarbamylyázy	X-vázaná

(tab. 1 monogenní onemocnění [13])

12.1 METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY

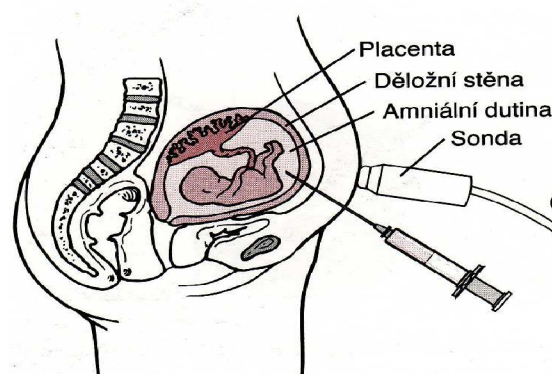
Současné rutinně používané metody prenatální diagnostiky můžeme rozdělit do dvou základních skupin: [2].

12.1.1 NEINVAZIVNÍ METODY

- ***Ultrazvukové zobrazení***- vyšetření plodu pomocí ultrazvuku je využíváno jako metoda screeningová a u vybraných těhotenství jako cílené vyšetření plodu. Jako první se provádí UZ vyšetření ve 13. týdnu gravidity. Hlavním přínosem je přesné stanovení délky těhotenství. Druhé UZ vyšetření se provádí ve 20. týdnu gravidity a je zaměřeno na vrozené vady poznatelné ultrazvukem. Třetí UZ vyšetření se provádí ve 30. - 34. týdnu gravidity a má význam pro posouzení stavu plodu a způsob vedení porodu [2].
- ***Rentgenové vyšetření***- vzhledem k riziku mutagenního působení X-paprsků by mělo být během těhotenství zcela vyloučeno. Přesto se občas využívá ke zjištění skeletálních dysplazií u plodu [15].
- ***Zobrazení pomocí magnetické rezonance***- je užitečné zejména při diagnostice anomálií vnitřních orgánů jako např. malformace mozku [15].
- ***Vyšetření krve matky (biochemický screening)***- sérum krve od matky obsahuje cenné indikátory, které mají vztah k Downově syndromu u plodu. Příkladem je alfa-fetoprotein (zvýšení může svědčit zejména o defektu neurální trubice), lidský choriový gonadotropin a nekonjugovaný estriol (základní prostředky k prenatálnímu screeningu trisomií 18 a 21) [15].

12.1.2 INVAZIVNÍ METODY

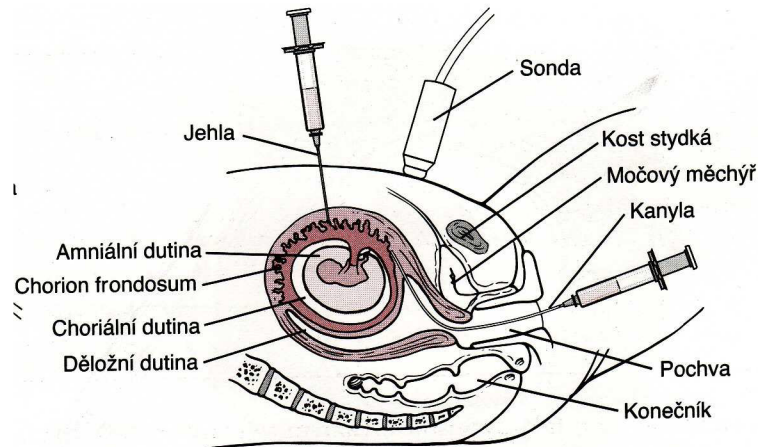
- **Amniocentéza**- poskytuje cenné výsledky zejména v 16. - 18. týdnu gravidity, kdy se využívá pro odhad koncentrace alfa-fetoproteinů a acetylcholintransferázové aktivity u těhotenství s rizikem defektu neurální trubice. Po počáteční lokalizaci placenty pomocí ultrazvuku zavádíme asepticky jehlu přes břišní stěnu matky do amniotické dutiny, přičemž odebereme 10-20 ml vzorku. Buňky amniotické tekutiny se uvolňují z kůže, respiračního a močového traktu plodu. Zákrok s sebou nese riziko potratu 0,5-2% [15].



(obr. 33 amniocentéza [13])

- **Kordocentéza**- od 18. týdne gravidity lze transabdominálním zavedením tenké jehly do pupečnicku odebrat vzorek fetální krve. Zákrok je řízen pomocí fetoskopie nebo ultrasonografie. Kultury získaných buněk poskytují materiál vhodný pro chromozomální analýzu nebo vyšetření DNA [15].

- **Biopsie choriových klků-** odběr choriových klků je biopsie syncytiotrofoblastu, kterou provádíme buď v 10. - 12. týdnu těhotenství zavedením katétru přes děložní krček, anebo transabdominální punkcí v kterémkoli termínu až do data porodu. Oba zákroky je třeba kontrolovat ultrazvukem. Karyotyp lze stanovit bez kultivace buněk [15].



(obr. 34 biopsie choria [13])

- **Fetoskopie-** prohlídka plodu pomocí endoskopu v 18. - 20. týdnu. Používá se při fetální biopsii a při vyšetření obstrukčních poruch močového měchýře [15].

12.2 INDIKACE K INVAZIVNÍMU PRENATÁLNÍMU VYŠETŘENÍ

- Věk matky v době porodu vyšší než 35 let.
- Chromozomální abnormality de novo u předchozího dítěte.
- Přítomnost již zjištěné chromozomální anomálie.
- Výskyt zjistitelné genetické poruchy v rodině.
- Výskyt X-vázané choroby v rodině.
- Zvýšená hladina alfa-fetoproteinu v séru matky anebo výskyt defektu neurální trubice v rodině.
- Příbuzenství rodičů v rodinách s výskytem recesivní choroby.
- Nemoc u matky, popřípadě medikace matky nebo její expozice účinkům teratogenů.
- Abnormální objem amniové tekutiny.
- Rodiče jsou prokázanými přenašeči geneticky podmíněných chorob.

[15]

13. ZÁVĚR

Cílem mé bakalářské práce bylo shrnout poznatky problematiky chromozomových změn u dětí s vrozenými vývojovými vadami.

Vrozenou vadou se rozumí odchylka struktury, funkce a biomechanismu, která znevýhodňuje nositele vzhledem k ostatním jedincům. Chromozomové změny jsou odchylky chromozomů numerického nebo strukturního charakteru, které lze zjistit cytogenetickými metodami. Základní metodou v rámci klinické cytogenetiky je stanovení karyotypu lidských chromozomů. Indikací k cytogenetickému vyšetření mohou být podezření na přítomnost chromozomální abnormality v karyotypu, vrozené anomálie, malignity, neplodnost nebo opakované potraty. Důležitou roli v rámci chromozomových aberací a vrozených vývojových vad hraje prenatální diagnostika na pracovištích lékařské genetiky nebo v centrech prenatální diagnostiky. Prenatální diagnostika je neustále se vyvíjející obor, ve kterém narůstá množství znalostí a nových technologií. Nezbytnou podmínkou je spolupráce více lékařských oborů.

Geny, které každý z nás dědíme, zvyšují míru rizika mnoha onemocnění. Proto je velmi důležitá preventivní genetika, která je založena na odhalování faktorů přispívajících ke genetickému riziku. Součástí preventivní genetiky jsou prenatální screening, novorozenecký screening a vedení genetických registrů. Prenatální screening společně s dietními opatřeními a užíváním kyseliny listové snižuje výskyt defektu neurální trubice. Takzvaný Triple test společně s ultrasonografií odhalí až 80% plodů s Downovým syndromem.

Na novorozenecký screening navazuje rychlé zahájení léčby a genetické poradenství.

Pro mě samotnou bylo zpracování práce velmi přínosné. Díky pomoci Mgr. Marty Hanákové jsem se naučila poznávat jednotlivé chromozomy ve světelném mikroskopu a uspořádat z nich lidských karyotyp.

14. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] BOŽENSKÝ, J. *Jaká je prognóza plicní stenózy u novorozence?*

Dostupné na World Wide Web:

<http://www.babybaby.cz/odborna-lekarska-poradna.html?item=284&poradna=8&start=80>

[2] BRYŠOVÁ, V. aj. *Základy klinické genetiky pro studující 4.ročníku lékařské fakulty*. 1. vydání, Brno : Masarykova univerzita, 1995. 91 s. ISBN 80-210-1150-5.

[3] ČÁKIOVÁ, J. *Předčasné porody, vývojové vady. Předčasné porody, potraty a vrozené vývojové vady*. [citace 16.2.2007]

Dostupné na World Wide Web:

<http://www.icm.cz/predcasne-porody-potratty-a-vrozene-vyvojove-vady>

[4] FERÁK, V. – SRŠEŇ, Š. *Genetika člověka*. 1. vydání, Bratislava : Slovenské pedagogické nakladatelství, 1981. 448 s. ISBN 67-182-81.

[5] GAILLYOVÁ, R. aj. *Klinická genetiky*. Brno: Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, 2006. Přednáška.

[6] JIRÁSEK, J.E. *Vrozené vývojové vady: jejich klasifikace a časná diagnostika*. [citace 2001]

Dostupné na World Wide Web:

http://www.sanquis.cz/clanek.php?id_clanek=130

[7] KOČÁREK, E. *Genetika*. 1. vydání, Praha : Scientia, 2004. 211 s. ISBN 80-7183-326-6

- [8] KUČEROVÁ, M. *Vrozené a získané poruchy lidských chromosomů*. 2. vydání, Praha : Grada Avicenum, 1988. 180 s. ISBN 08-067-88.
- [9] KUGLÍK, P. *Vybrané kapitoly z cytogenetiky*. 1. vydání, Brno : Masarykova univerzita, 2000. 168 s. ISBN 80-210-2334-1.
- [10] LONSKÁ, J. *Rozštěpové vady z hlediska ortodontie*. [citace 25.5.2006]
Dostupné na World Wide Web:
<http://www.stomateam.cz/index.php?clanek=125>
- [11] MAČÁK, J. – MAČÁKOVÁ, J. *Patologie*. 1. vydání, Praha : Grada Publishing, a.s., 2004. 348 s. ISBN 80-247-0785-3.
- [12] NEČAS, O. aj. *Obecná biologie pro lékařské fakulty*. 1. vydání, Jinočany : H&H, 2000. 554 s. ISBN 80-86022-46-3.
- [13] NUSSBAUM, R.L. – McINNES, R.R. – WILLARD, H.F. *Klinická genetika*. 6. vydání, Praha : Triton, 2004. 426 s. ISBN 80-7254-475-6.
- [14] PETERKA, M. *Vývojové poruchy orofaciální oblasti*. Praha.
Dostupné na World Wide Web:
<http://www.stastnyusmev.wz.cz/peterka.html>
- [15] PRITCHARD, D.J. – KORF, B.R. *Základy lékařské genetiky*. 1. české vydání, Praha : Galén, 2007. 182 s. ISBN 978-80-7262-449-2.
- [16] ROSYPAL, S. *Molekulární genetika*. 2. přepracované a doplněné vydání, Praha : Státní pedagogické nakladatelství, 1989. 352 s. ISBN 80-04-23117-9.

- [17] SCHINZEL, A. *Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man*. 2. vydání, Berlín : Walter de Gruyter, 2001. 966 s. ISBN 3-11-011607-3.
- [18] SRŠEŇ, Š – SRŠŇOVÁ, K. *Základy klinické genetiky*. 1. vydání, Martin : Coala, 1992. 258 s. ISBN 80-900441-3-1.
- [19] SRŠEŇ, Š – SRŠŇOVÁ, K. *Základy klinické genetiky*. 2. přepracované a rozšířené vydání, Martin : Neotype, 1995. 259 s. ISBN 80-217-0477-2.
- [20] ŽIŽKA, J. *Diagnostika syndromů a malformací*. 1. vydání, Praha : Galén, 1994. 414 s. ISBN 80-85824-04-3.
- [21] <http://cs.wikipedia.org/wiki/Genetika>
- [22] <http://cs.wikipedia.org/wiki/Mutace>
- [23] <http://genetika.wz.cz/aberrace.htm>
- [24] <http://genetika.wz.cz//genetika.htm>
- [25] <http://genetika.wz.cz/choroby.htm>
- [26] <http://genetika.wz.cz/vady.htm>
- [27] <http://images1.clinicaltools.com/images/gene/trisomy13.jpg>
- [28] <http://images1.clinicaltools.com/images/gene/trisomy18.jpg>
- [29] <http://images1.clinicaltools.com/images/gene/trisomy21.jpg>

- [30] <http://images1.clinicaltools.com/images/gene/trisomyxxy.jpg>
- [31] <http://images1.clinicaltools.com/images/gene/turnersyndromexnoy.jpg>
- [32] <http://www.safebryo.cz/fotogalerie.htm>
- [33] <http://www.szu.cz/chzp/zpravy/sub6/kap63-1d.htm>
- [34] <http://www.uni-ulm.de/klinik/antgen/medgenet/gifs/karyogr.png>
- [35] <http://www.upmd.cz/?lang=cz&category=1-4-11-63-78>
- [36] http://www.zdravcentra.cz/cps/rde/xchg/zc/xsl/3626_15394.html