

Název vyšetření: Cystická fibróza - detekce 68 nejfrekventovanějších mutací, včetně polymorfních oblastí v intronu 8 (poly T, poly TG)

Popis:

Cystická fibróza (CF) je jedno z nejčastějších metabolických onemocnění s autozomálně recesivním typem dědičnosti. Jedná se o velmi vážné onemocnění s výskytem 1 postižený na 2500-3000 živě narozených dětí. Přibližně každý třicátý jedinec je nepostiženým přenašečem mutace pro tuto chorobu.

V genomu pacientů postižených CF bylo zaznamenáno více než 2000 mutací v genu CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulátor). Převážná většina z nich se však vyskytuje velmi zřídka. Nejčastější mutací je mutace F508del, která se nachází přibližně u 70% pacientů v evropských populacích a Severní Americe.

CFTR je transmembránový protein, který řídí tok chloridových iontů přes membránu buňky v závislosti na ATP a cAMP. Mutace v CFTR genu způsobují, že se membránový kanál stává nepropustným pro chloridové ionty. V důsledku toho se mění složení a fyzikálně – chemické vlastnosti hlenu na povrchu sliznic. Hlenový sekret na povrchu epitelu se zahušťuje, což narušuje normální funkci orgánů a je příčinou většiny klinických příznaků CF.

CF se projevuje opakovanými kombinovanými infekcemi dýchacích cest, chronickým onemocněním plic, pankreatickou exokrinní insuficiencí a zvýšeným obsahem solí v potu.

Před exonem 9 v intronu 8 genu CFTR se nalézají dvě polymorfní repetice nukleotidových bází v přímé souslednosti (ve směru 5'-3' transkripce DNA): T(n) a TG(n). Se vzrůstajícím počtem repetice TG(n) a naopak se snižujícím se počtem repetice T(n) se snižuje i podíl správně sestřižených exonů 8 a 9 v průběhu sestřihu mRNA. Transkripty mRNA bez exonu 9 nejsou dále zpracovány v endoplazmatickém retikulu a transportovány dále z jádra k povrchu buňky. Z tohoto důvodu je na povrchu epiteliálních buněk menší množství funkčních proteinů CFTR. V případě alely 5T počet TG repetice v pozici *cis* určuje výsledné množství plně funkčních proteinů – chloridových kanálů CFTR, které zajišťují normální transport iontů na povrchu epiteliálních buněk. Pokud jejich množství klesne pod kritickou hranici 5-10% normy, dojde k rozvoji patogenetické kaskády vedoucí k rozvoji atypických či dokonce vzácně i typických forem CF. Asociace 5T-12TG nebo 5T-13TG (obojí v pozici *cis*) v homozygotním stavu nebo ve složené heterozygotní podobě s další patogenní mutací v genu CFTR v pozici *trans* obvykle vede k rozvoji onemocnění příbuzného CF, jako je např. kongenitální bilaterální absence vas deferens (CBAVD) nebo chronická idiopatická pankreatitida. Kombinace 5T-11TG je velmi nepravděpodobně spojena s rozvojem CF. V případě CBAVD je většina variant 5T asociována

v pozici *cis* s TG12/TG13 (v 90% všech případů. Včasná postnatální diagnostika a soustavná racionální léčba velmi zlepšily prognózu CF. Dnes přežívá polovina nemocných 30 let.

Jednotky: -

Referenční hodnoty:

Negat. - negativní = nemutovaný homozygot = *wild type* = wt / wt; 7T/7T; 9T/9T; 5T (9TG)/5T (9TG); 5T (10TG)/5T (10TG); 5T (11TG)/5T (11TG)

Heteroz. – heterozygot = wt / mut; 7T/9T; 5T (9TG)/7T; 5T (10TG)/7T; 5T (11TG)/7T; 5T (12TG)/7T; 5T (13TG)/7T; 5T (9TG)/9T; 5T (10TG)/9T; 5T (11TG)/9T; 5T (12TG)/9T; 5T (13TG)/9T

Homozyg. - mutovaný homozygot = mut / mut; 5T (12TG)/5T (12TG), 5T (13TG)/5T (13TG)

Záchytnost použitého kitu je 91,91% mutací v CFTR genu.

Seznam vyšetřovaných sekvenčních variant v genu CFTR:

Název cDNA varianty	Tradiční název	Název cDNA varianty	Tradiční název
c.948delT	1078delT	c.1624G>T	G542X
c.1021_1022dupTC	1154insTC	c.1652G>A	G551D
c.1029delC	1161delC	c.254G>A	G85E
c.1393-1G>A	1525-1G->A	c.1007T>A	I336K
c.1477_1478delCA	1609delCA	c.1519_1521delATC	I507del
c.1545_1546delTA	1677delTA	c.2128A>T	K710X
c.1585-1G>A	1717-1G->A	c.617T>G	L206W
c.1680-886A>G	1811+1.6kbA->G	c.653T>A	L218X
c.1680-1G>A	1812-1G->A	c.3302T>A	M1101K
c.1766+1G>A	1898+1G->A	c.3909C>G	N1303K
c.1766+5G>T	1898+5G->T	c.200C>T	P67L
c.1911delG	2043delG	c.1477C>T	Q493X
c.2012delT	2143delT	c.2668C>T	Q890X
c.2051_2052delAAinsG	2183AA->G	c.3196C>T	R1066C
c.2052delA	2184delA	c.3472C>T	R1158X
c.2052dupA	2184insA	c.3484C>T	R1162X
c.2657+5G>A	2789+5G->A	c.349C>T	R117C

c.2737_2738insG	2869insG	c.350G>A	R117H
c.2988+1G>A	3120+1G->A	c.3848G>A	R1283M
c.3140-26A>G	3272-26A->G	c.1000C>T	R334W
c.3528delC	3659delC	c.1040G>A	R347H
c.3718-2477C>T	3849+10kbC->T	c.1040G>C	R347P
c.3773dupT	3905insT	c.1657C>T	R553X
c.262_263delTT	394delTT	c.1679G>C	R560T
c.489+1G>T	621+1G->T	c.3752G>A	S1251N
c.489+2T>C	621+2T->C	c.1646G>A	S549N
c.579+1G>T	711+1G->T	c.695T>A	V232D
c.580-1G>T	712-1G->T	c.1558G>T	V520F
c.1364C>A	A455E	c.3846G>A	W1282X
c.1682C>A	A561E	c.3276C>A	Y1092X (C>A)
c.54-5940_273+10250del21kb CFTRdele2,3	c.366T>A	Y122X	
c.3454G>C	D1152H	c.1705T>G	Y569D
c.178G>T	E60X	5T (TG9-13)	c.[1210-12[5];1210-34TG[9-13]]
c.274G>A	E92K	7T	c.1210-12[7]
c.274G>T	E92X	9T	c.1210-12[9]
c.1521_1523delCTT	F508del		

Odběr:

- Nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K₃EDTA nebo citrátem sodným
- Krev nesmí být odebrána do heparinu!
- Pro molekulárně genetické vyšetření stačí jedna malá zkumavka krve (2 ml).
- Odběr není třeba provádět na lačno!
- Čerstvě odebraná nekultivovaná, případně kultivovaná, ale nefixovaná plodová voda s amniocyty. Pro molekulárně genetické vyšetření je dostačující 2-7 ml plodové vody.
- Odebraný biologický materiál je třeba skladovat při 4–8 °C, pokud není bezprostředně po odběru zaslán do laboratoře. Za těchto podmínek je možné uchovávat biologický materiál 7 dnů.
- Pokud se předpokládá delší uskladnění biologického materiálu před odesláním do laboratoře,

je vhodné odebraný biologický materiál zamrazit.

Biologický materiál: nesrážlivá periferní krev, plodová voda s amniocyty

Provádí se: 1x týdně

Doba odezvy: 10 pracovních dnů