

Doktorská disertační práce se zabývá vypracováním a zavedením zdokonalených molekulárně cytogenetických vyšetření pro reprodukční genetiku. Zahrnuje metody klinické přímo užívané ke zlepšení diagnostiky a terapie pacientů z neplodných párů i metody experimentální, které pokud se jejich přínos prokáže, mohou být základem nových diagnostických postupů. Práce se soustřeďuje na studium aneuploidií, neboť představují závažnou komplikaci lidské reprodukce a jsou zásadním problémem léčby metodami asistované reprodukce.

Cíle

Z klinického hlediska bylo hlavním cílem práce bylo zavedení vyšetření chromosomů spermií, polárních tělísek a blastomer pomocí fluorescenční in situ hybridizace (FISH) pro prefertilizační a preimplantační diagnostiku aneuploidií. Hlavním výzkumným cílem bylo provedení studie lokalizace chromosomů v jádrech blastomer odebraných pro preimplantační vyšetření po mimotělním oplození. Záměrem bylo zjistit, zda pro polohu chromosomů z hlediska umístění ve středu nebo na periférii jádra platí u blastomer podobná pravidla jako u jiných buněčných typů v pozdějších stádiích vývoje a zda je poloha chromosomů ovlivněna aneuploidií. Dále jsme si dali za cíl pátrat pro periferní lokalizaci chromosomu X v buňkách s více kopiemi chromosomu X. Ta by mohla být projevem inaktivace chromosomu X, která dle nejnovějších výzkumů na myších embryích muže začínat již v preimplantační fázi vývoje.

Metody

Pro vyšetření spermií, polárních tělísek a blastomer byla použita FISH s DNA sondami na chromosomy 1, 13, 16, 18, 21, 22, X a Y. Bylo též otestováno použití PNA sond (peptide nucleic acids) na chromosomy 1, 4, 9, 16, 18, X a Y a metody 3-rozměrné počítačové analýzy mikroskopického obrazu pomocí počítače pro hodnocení výsledků FISH. Pro hodnocení lokalizace chromosomů v jádrech blastomer byla vypracována metodika měření polohy jejich signálů pomocí počítačové obrazové analýzy a metoda porovnání nalezeného rozložení signálů s matematickým modelem náhodného rozložení.