

# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY

vytvořilo CMBG FN Brno

zpracovala Mgr. Navaříková



**VYŠETŘENÍ ZÍSKANÝCH  
CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ**  
v důsledku působení mutagenních faktorů prostředí  
- z periferní krve

**STANOVENÍ % ABERANTNÍCH BUNĚK**



NI  
D

FAKULTNÍ  
NEMOCNICE  
BRNO

# VSTUPNÍ MATERIÁLY K VYŠETŘENÍ



periferní krev



NI  
D

FAKULTNÍ  
NEMOCNICE  
BRNO

# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL) příčiny vzniku

působení - **fyzikálních faktorů**

(ionizující záření)

- **chemických látek**

(cytostatika, imunosupresiva, oxidační,  
alkylační činidla ad. látky používané  
v průmyslu)

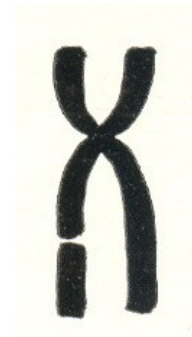
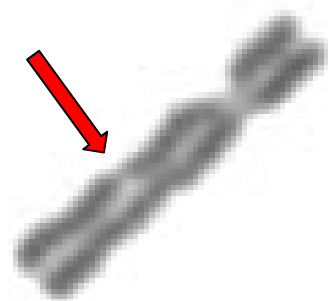
- **biologických faktorů**

(virové infekce – pravé neštovice, spalničky,  
zarděnky ad.)



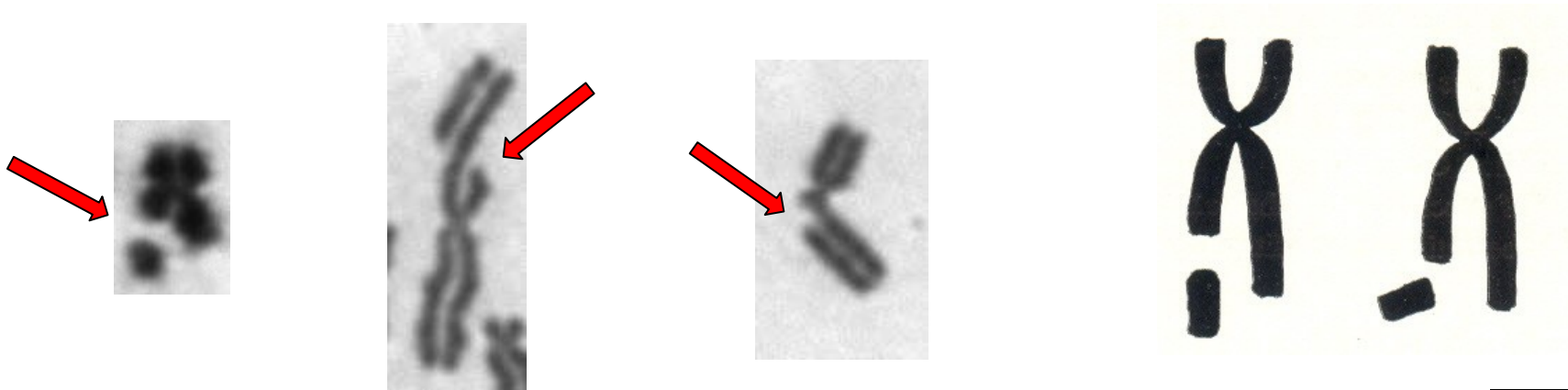
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromatidové aberace

- **chromatidové gapy (mezery) - chtg (chromatid gap)**– příčně slabě se barví část chromatidy (achromatické léze), také úplné přerušení nepřesahující šířku chromatidy



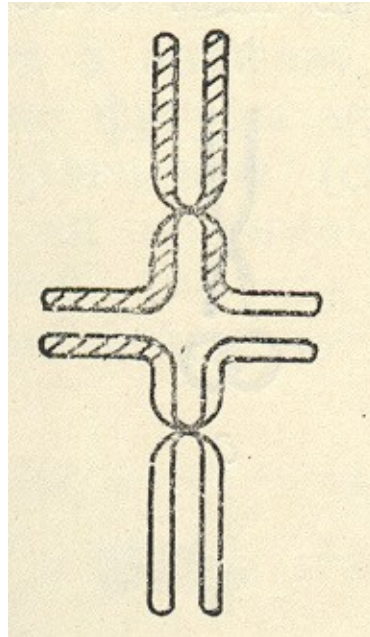
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromatidové aberace

- **chromatidové zlomy - chtb** (chromatid break),  
oddělení samostatného **fragmentu (F)** – úplné  
přerušení chromatidy, pravděpodobně koncová delece (fragменты мívají  
různé rozměry, mohou být v ose s původním chromosomem nebo nemusí)

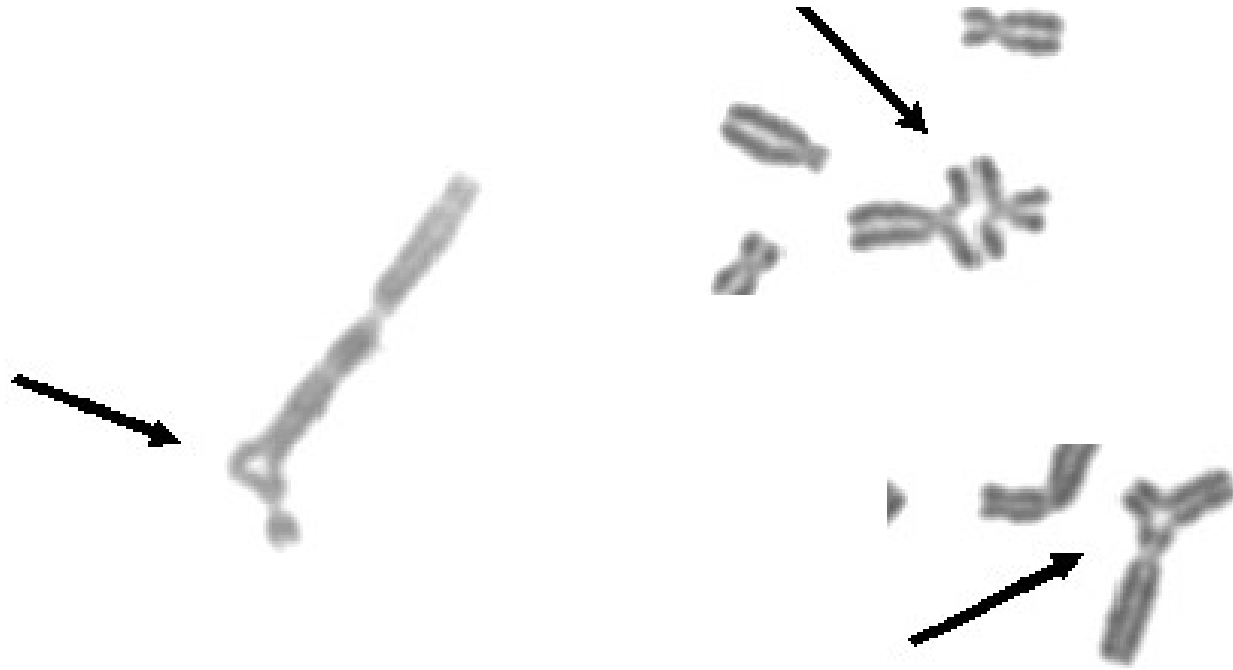


# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromatidové aberace

- **chromatidové výměny - chte** (chromatid exchange)-  
výměny části chromatid v rámci jednoho nebo více chromosomů



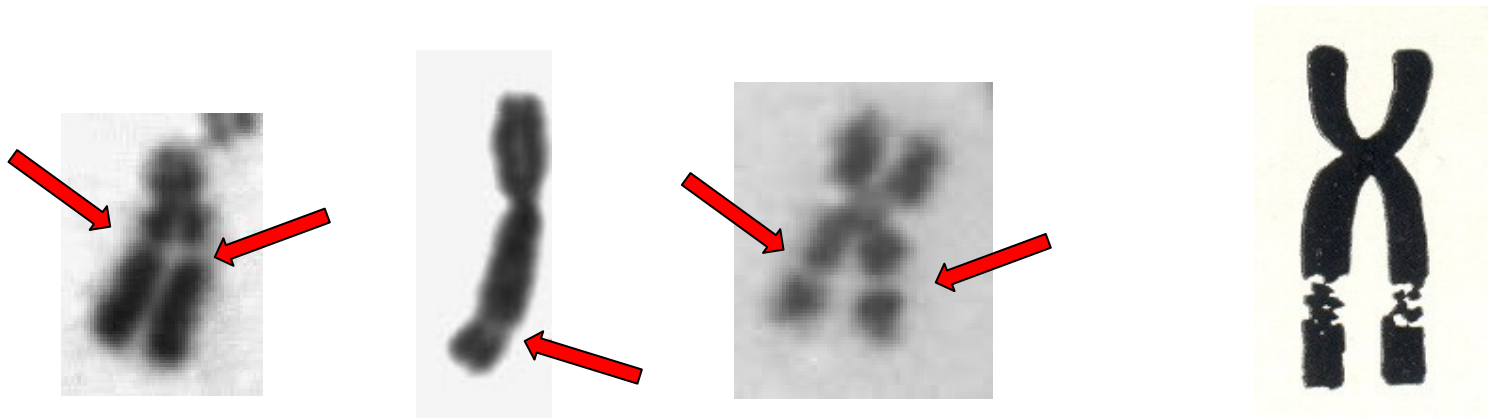
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromatidové aberace - chromatidové výměny





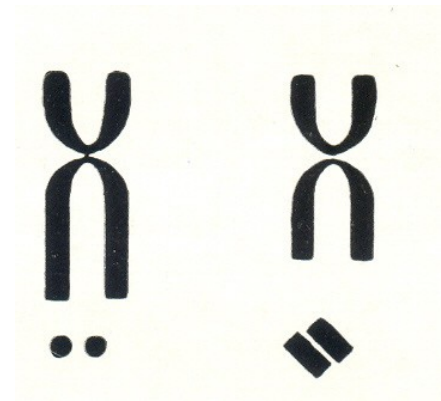
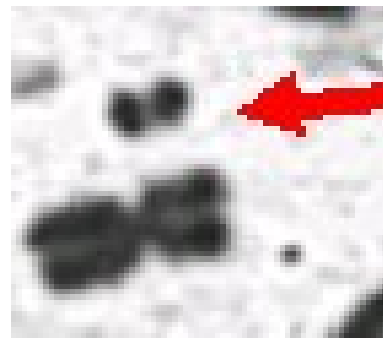
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromosomové aberace

- **chromosomové gapy - chrg** (chromosome gap) -příčně slabě se barvící část chromosomu (achromatické léze), také úplné přerušeni chromosomu nepřesahující šířku chromatidy



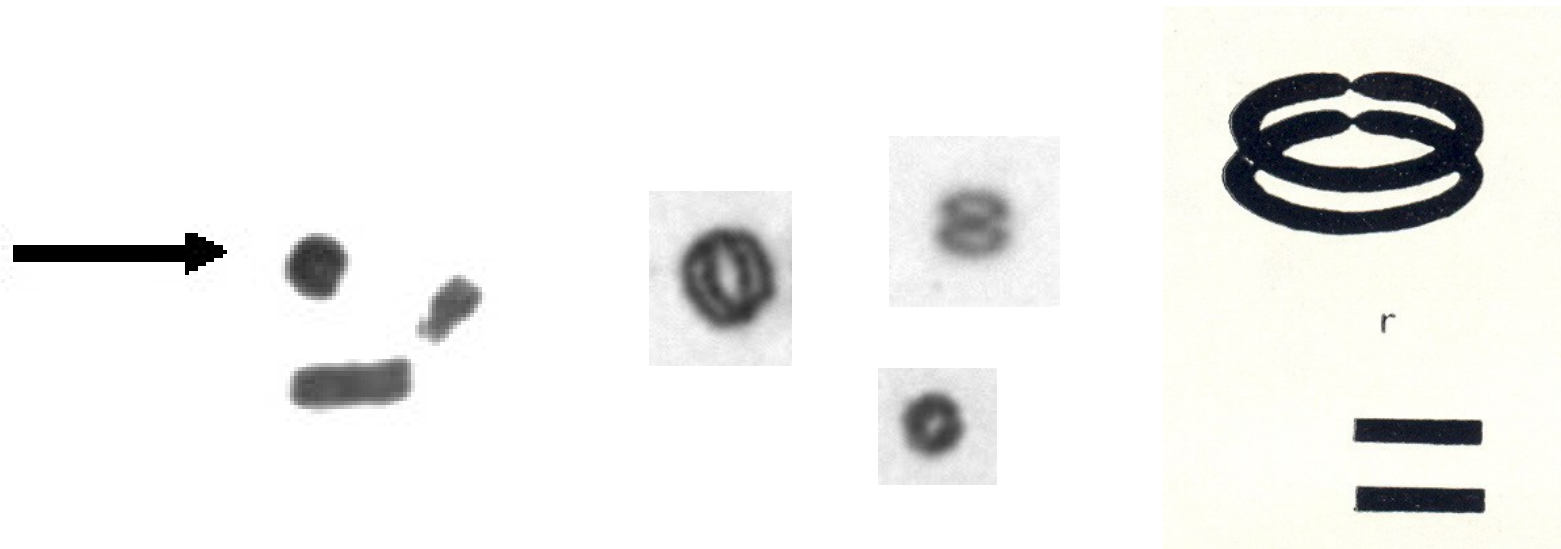
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromosomové aberace

- **chromosomové zlomy - chrb** (chromosome break),  
oddělení **párových fragmentů (DF)**- úplné přerušení  
obou chromatid, pravděpodobně koncová delece (fragment obvykle leží  
paralelně, mívají různé rozměry, mohou být v ose s původním  
chromosomem nebo nemusí)



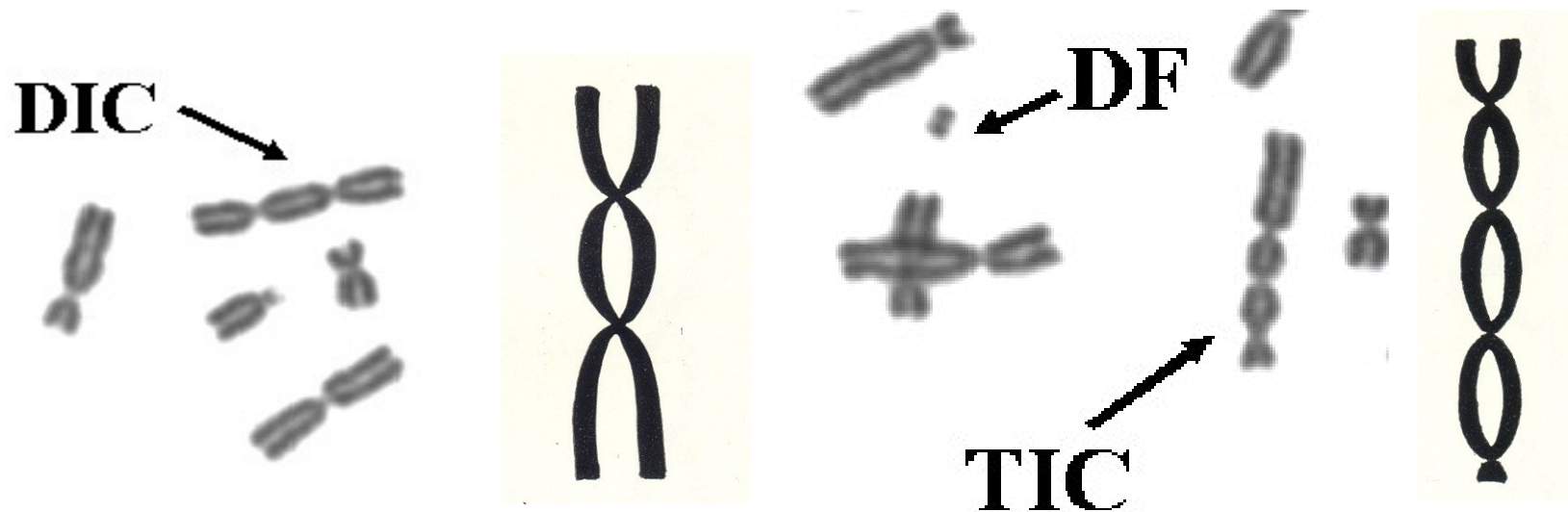
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromosomové aberace

- **acentrické ringy, kruhové chromosomy-**  
uzavřené struktury, vznik dvou zlomů na jednom chromosomu, dojde ke spojení – acentrické ringy jsou bez centromery, kruhové chromosomy zahrnují centromeru



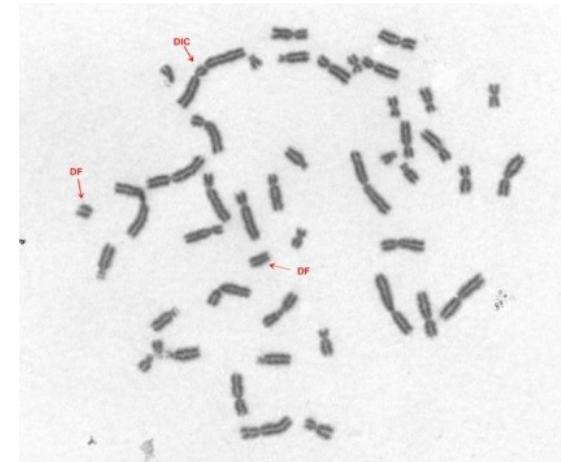
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromosomové aberace

- chromosomy zahrnující více než 1 centromeru-  
dicentrické, tricentrické chromosomy...



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (vliv mutagenních faktorů prostředí)

- vlivem mutagenních faktorů prostředí dochází na chromosomech ke vzniku aberací (zlomy, di-, tricentrické chromosomy, ring chromosomy ad.)
  - vyšetřujeme mitózy, které jsou **barvené konvenční metodou barvení chromosomů**
  - mitózy, ve kterých je nalezena alespoň jedna chromosomová aberace, nazýváme „**aberantní buňky**“
- 
- **nacházíme různé změny v různých buňkách**
  - **v každé buňce může být jiná chromosomová aberace – nejedná se o mozaiku, ale o náhodné změny, v jedné mitóze můžeme nalézt 1 změnu nebo i více)**



aberantní buňka  
(mitóza s aberací)



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE

(vliv mutagenních faktorů prostředí)  
vyšetření z periferní krve

## Stanovení % aberantních buněk – buněk s poškozeným chromosomem

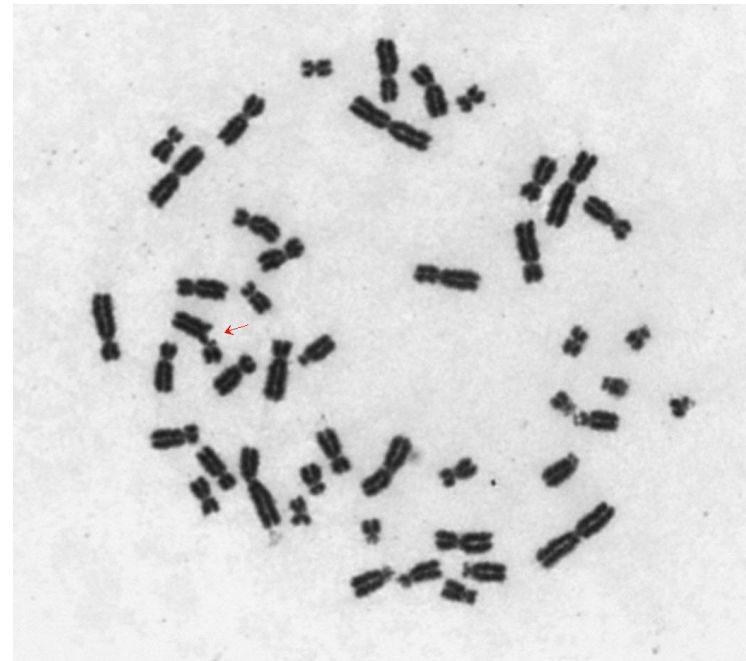
### Přítomnost aberací v somatických buňkách

- rychlejší stárnutí organismu
- vznik degenerativních onemocnění
- možné maligní zvrhnutí

### Přítomnost aberací v gametách

- zvýšené riziko narození postiženého dítěte

### Konvenční barvení chromosomů



aberantní buňka



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (vliv mutagenních faktorů prostředí)

Výsledek: **stanovení % aberantních buněk**

- ANALÝZA ZÍSKANÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ (ZCA) –  
individuální hodnocení
  - hraniční patologie při **individuálním hodnocení:**  
**opakovaný nález 5% ab. buněk** ze 100 hodnocených
- CYTOGENETICKÁ ANALÝZA PERIFERNÍCH LYMFOCYTŮ (CAPL) -  
skupinové hodnocení
  - hraniční patologie při **skupinovém hodnocení:**  
**zvýšená expozice mutagenním faktorům:**  
**2 – 4 % aberantních buněk** z 200 – 300 hodnocených  
**vysoká expozice mutagenním faktorům:**  
**více než 4% aberantních buněk** z 200 – 300 hodnocených



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)

Změny na chromosomech jsou náhodné (v různých buňkách různé), proto identifikujeme pouze typ aberace (např. zlom, ring chromosom aj.) a není třeba aberaci dále analyzovat (například určovat přesně místa zlomů, které chromosomy se spojily v dicentrický chromosom, apod.). Tzn. vyšetřujeme POUZE METODOU KLASICKÉ CYTOGENETIKY – konvenčním barvením chromosomů směsí barviv Giemsa – Romanowski. (netřeba vyšetření molekulárně cytogenetickými metodami)





# POSTUP ZÍSKÁNÍ PREPARÁTU

- odběr materiálu – **STERILNÍ ODBĚR!**
- kultivace – **získání dostatečného množství dělících se buněk** (s chromosomy), zastavení dělení buněk **kolchicinem**  
doba kultivace **48 hodin** (zachycení 1. buněčného dělení),  
kratší než u stanovení karyotypu
- zpracování suspenze (hypotonizace, fixace) – získání **suspenze buněk**
- vykapání na podložní sklíčka
- **barvení chromosomů konvenční metodou**
- hodnocení ve světelném mikroskopu



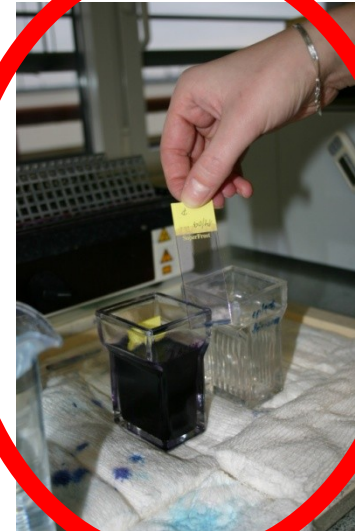
# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## konvenční barvení chromosomů

- **konvenční barvení chromosomů**

(srovnání s postupem při přípravě chromosomů s G – pruhy – mitózy na sklíčkách po zaschnutí obarvíme v barvě Giemsa-Romanowski bez předchozí inkubace v roztoku trypsinu)

1 – inkubace  
preparátu  
v roztoku  
trypsinu  
(natrávení  
proteinů na  
povrchu  
chromosomů)



2 – barvení  
barvivem  
Giemsa-  
Romanowski

chromosomy homogenně obarvené po celé délce, bez příčných pruhů



# VROZENÉ ABERACE / ZÍSKANÉ ABERACE (mutagenní faktory)

důležité odlišnosti mezi přípravou preparátů z periferní krve pro:

1. **stanovení karyotypu** – chromosomy s G – pruhy
  - délka kultivace 72 hodin
  - G-pruhování = inkubace v trypsinu + směs barviv Giemsa – Romanowski
  - nalezenou aberaci se snažíme co nejpřesněji definovat (i za pomoci metod molekulární cytogenetiky)
2. **stanovení % aberantních buněk** – chromosomy konvenčně barvené
  - délka kultivace 48 hodin (je třeba zachytit 1. buněčné dělení – později dochází k opravě aberací)
  - konvenční barvení = pouze Giemsa – Romanowski bez trypsinu
  - konkrétní aberace neupřesňujeme, podstatné je pouze jestli je/není v dané buňce některá aberace přítomna



# Klinické indikace k vyšetření ZCA/CAPL (mutagenní faktory)

- práce v riziku (kontakt se škodlivými látkami, zářením), vstupní prohlídky na pracovištích se zvýšeným rizikem
- po chemoterapii, po jiné dlouhodobé léčbě
- kontrolní vyšetření u zachycených případů

**% aberantních buněk se sníží na normu po vitaminizaci antioxidanty (vitamíny A, E, C, event. Se, Zn, doba léčby 3 – 6 měsíců)**



Kontakt pro dotazy: [Navarikova.Marta@fnbrno.cz](mailto:Navarikova.Marta@fnbrno.cz)