

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



VSTUPNÍ MATERIÁLY K VYŠETŘENÍ



periferní krev



ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL) příčiny vzniku

působení - **fyzikálních faktorů**

(ionizující záření)

- **chemických látek**

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

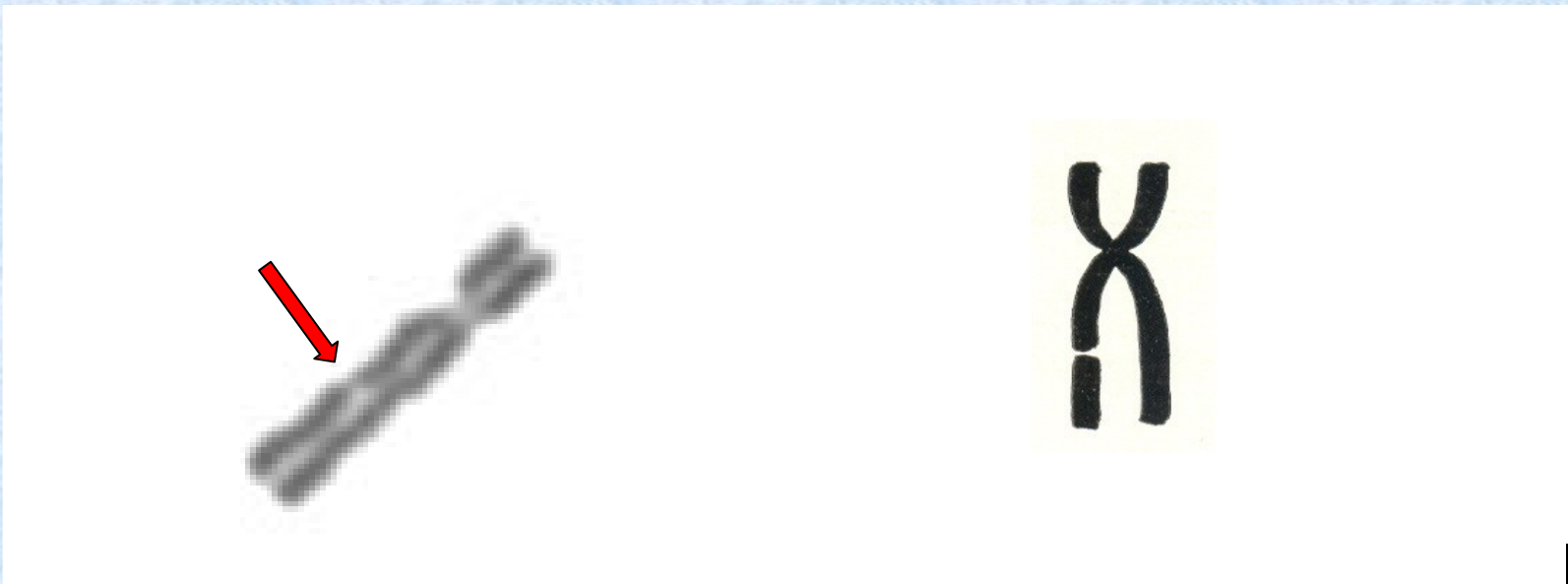
- **biologických faktorů**

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



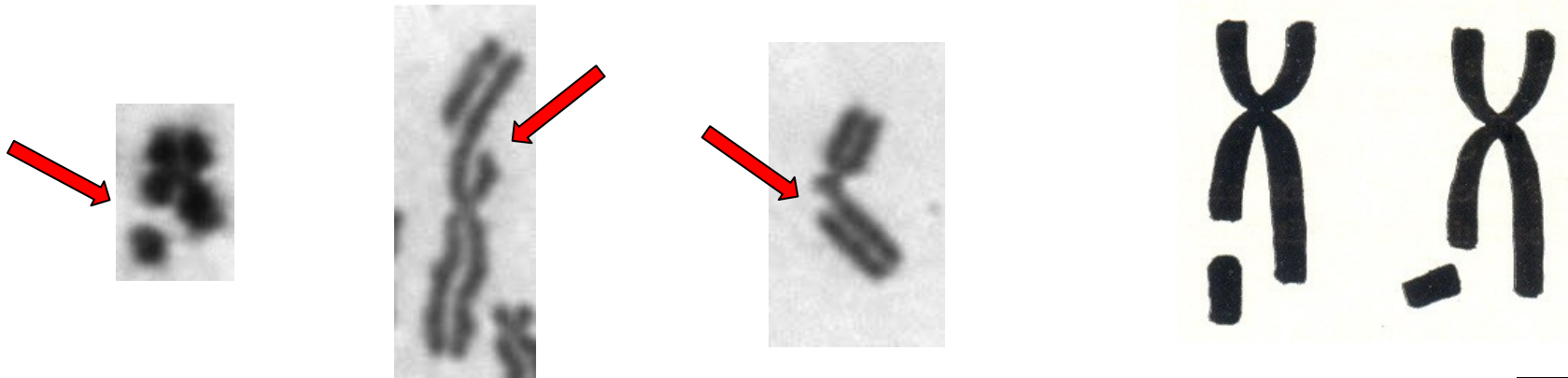
ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromatidové aberace

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



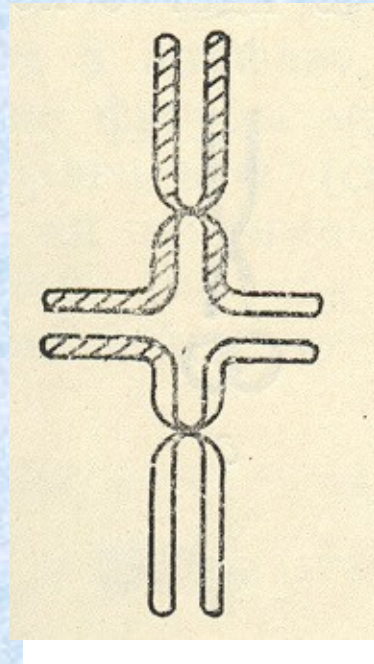
ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromatidové aberace

- **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)

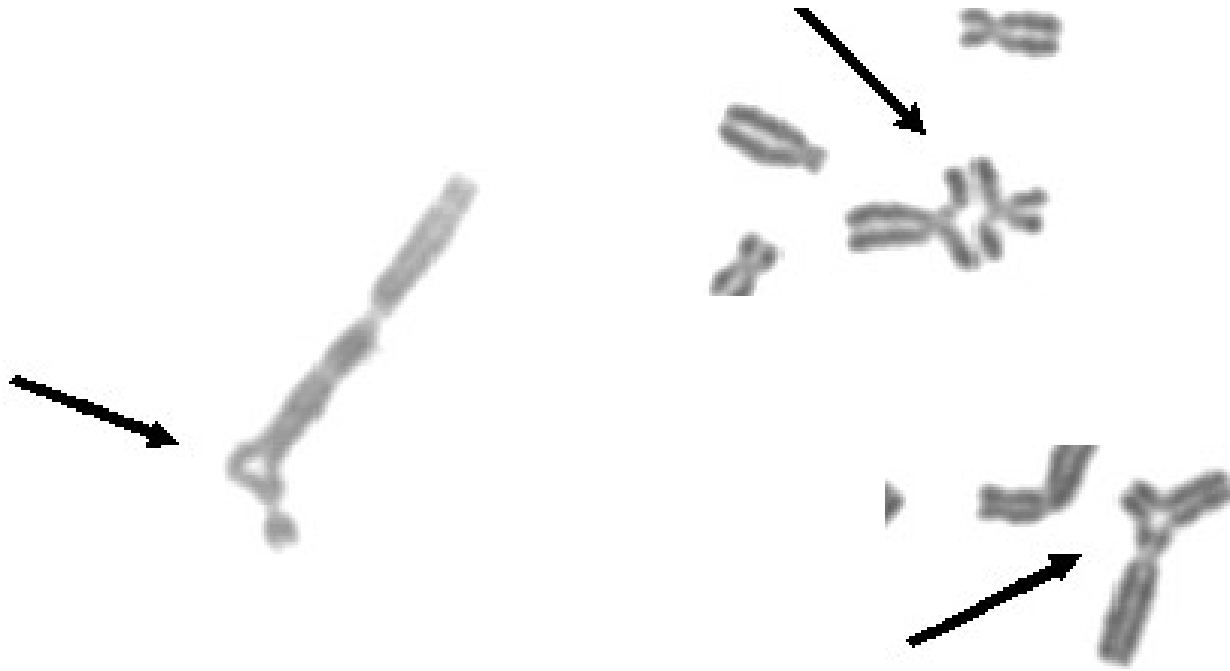


ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromatidové aberace

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

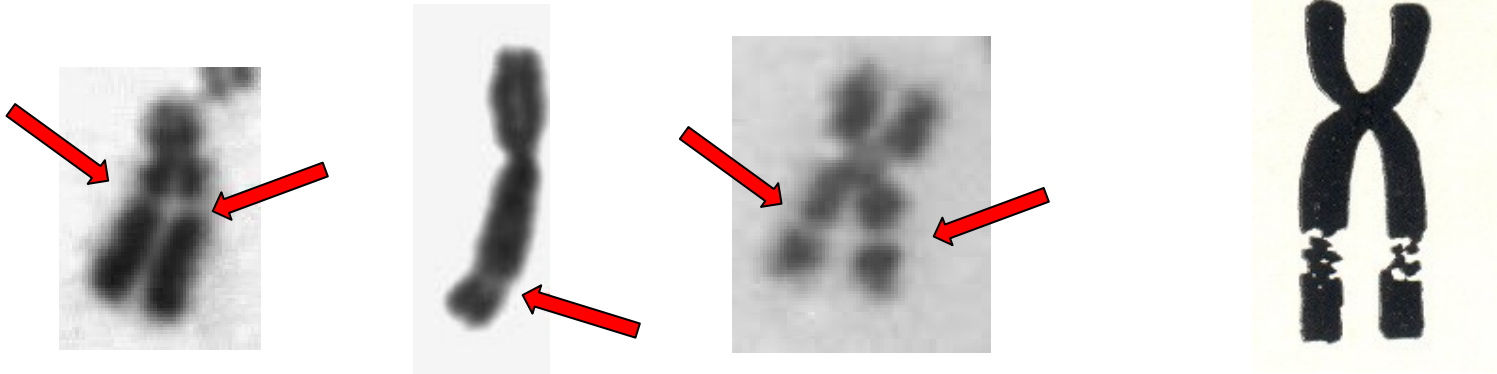


ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromatidové aberace - chromatidové výměny



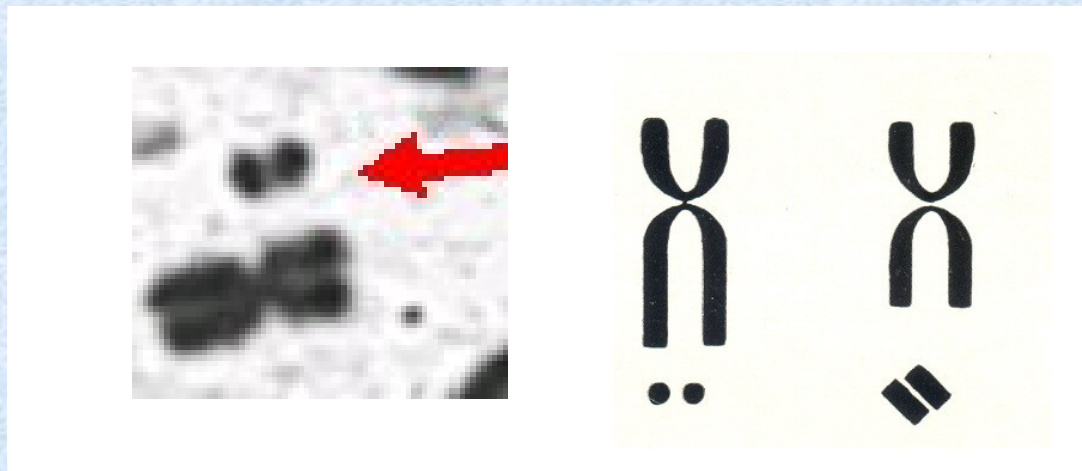
ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromosomové aberace

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



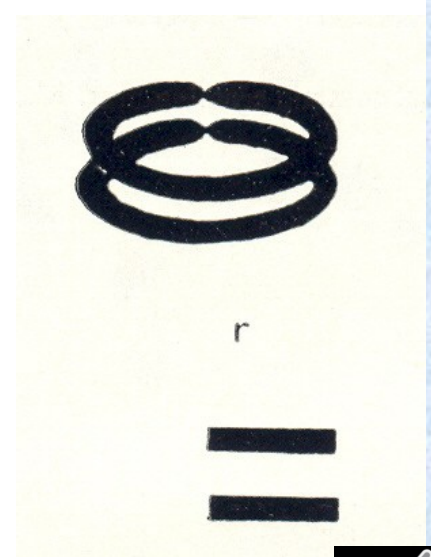
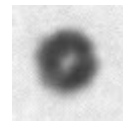
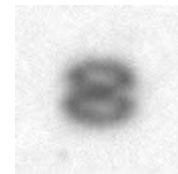
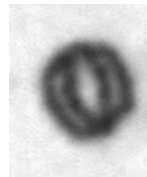
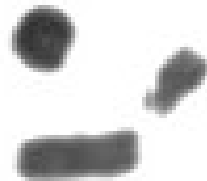
ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromosomové aberace

- **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)



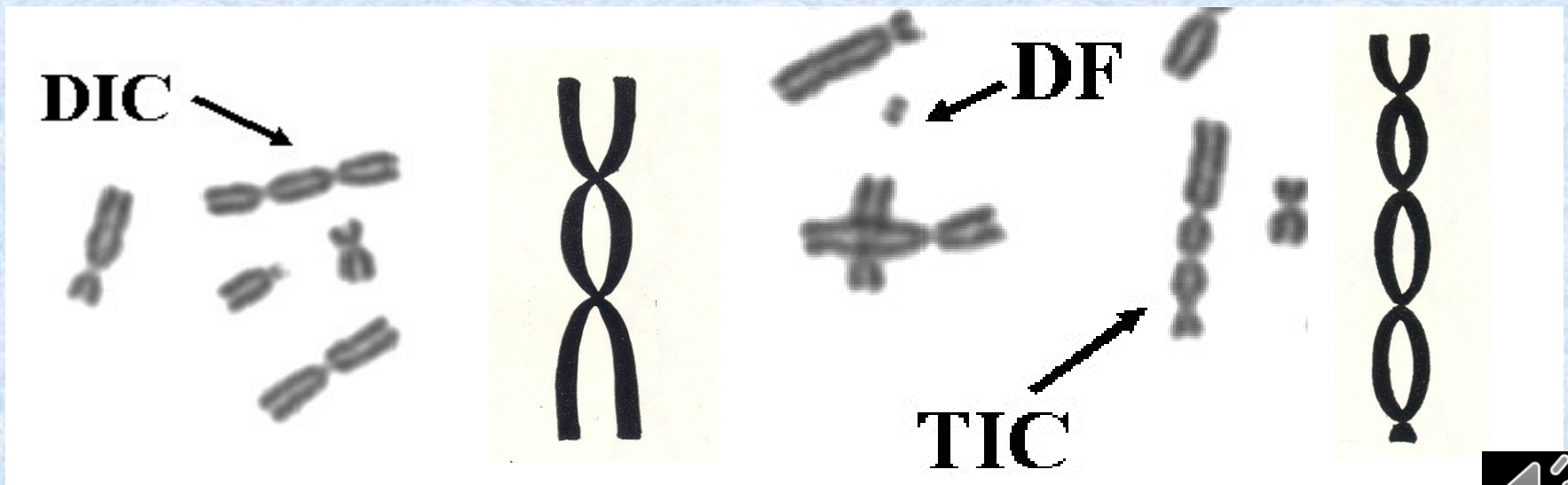
ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA/CAPL)- typ poškození – chromosomové aberace

- **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

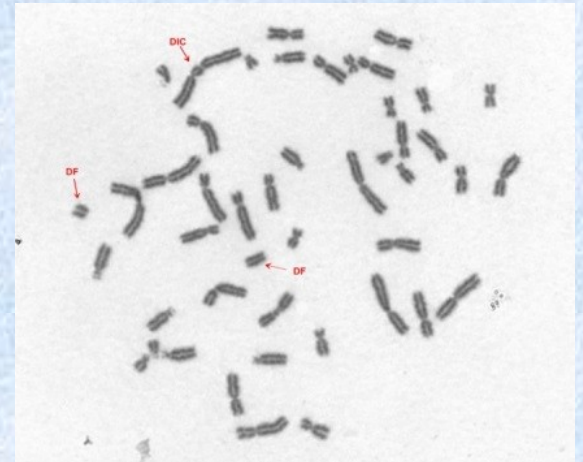
- chromosomy zahrnující více než 1 centromeru-
dicentrické, tricentrické chromosomy...



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

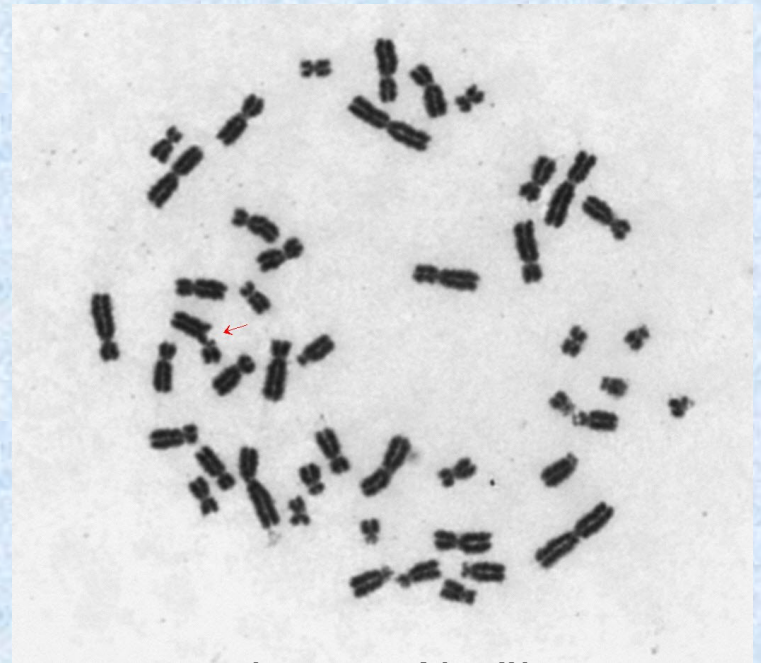
Přítomnost aberací v somatických buňkách

- 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 dělicích 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

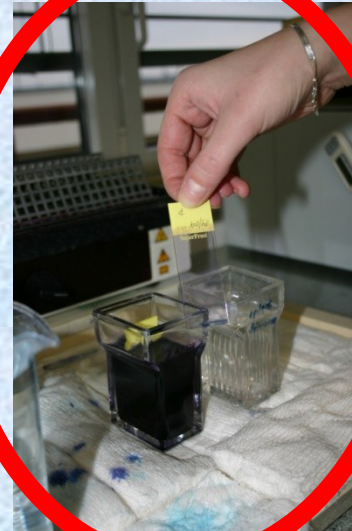
- **konvenční barvení chromosomů**

(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