

# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE

vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno  
s podporou projektu OPvK



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

zpracovala Mgr. Hanáková



# CHROMOSOMOVÉ ABERACE (CHA)

Cílem cytogenetického vyšetření je zjištění  
**přítomnosti / nepřítomnosti chromosomových  
aberrací** (patologických chromosomových změn)

# TYPY ZÍSKANÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ

- VYŠETŘENÍ ZÍSKANÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ (vznikajících v důsledku působení mutagenních faktorů prostředí na člověka) – postnatální vyšetření
- VYŠETŘENÍ ZÍSKANÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ (u onkologických onemocnění)  
vyšetření z kostní dřeně a tkáně solidních tumorů



# **VYŠETŘENÍ ZÍSKANÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ u onkologických pacientů**

## **VYŠETŘENÍ KARYOTYPU MALIGNÍCH KLONŮ**



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



# VSTUPNÍ MATERIÁLY K VYŠETŘENÍ

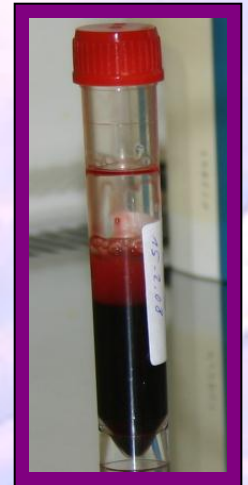
kostní dřeň



solidní nádory



periferní krev



Obr. 1 (Dokumentace OLG FN Brno)

# MOŽNOSTI VYŠETŘENÍ GENETICKÉHO MATERIÁLU (v různých typech laboratoří)

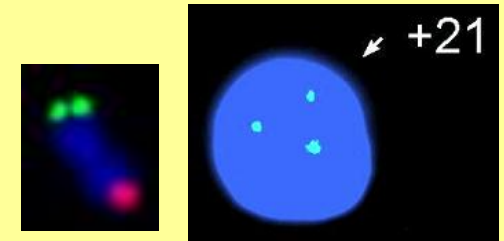
- **vyšetření chromosomů**
  - **metodami klasické cytogenetiky**  
(G-pruhování chromosomů)  
vyšetření celého karyotypu (všech chromosomů)  
rozlišovací schopnost nejnižší (do 10 Mb – přibližně 1 pruh)



chromosom s G-pruhy

Obr. 2 (Dokumentace OLG FN Brno)

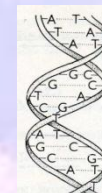
- **vyšetření chromosomů, interfázních jader i izolované DNA**
  - **metodami molekulární cytogenetiky**  
(vyšetření pomocí fluorescenčně značených sond, PCR)  
vyšetření celého karyotypu  
vyšetření konkrétních oblastí  
rozlišovací schopnost vyšší (až po rozdíly v jednotlivých nukleotidech – závisí na konkrétní metodě)



chromosom s fluorescenčně značenými sondami (vlevo), interfázní jádro (vpravo)

Obr. 3 (Dokumentace OLG FN Brno)

- **vyšetření izolované DNA**
  - **metody molekulární genetiky**  
rozlišovací schopnost nejvyšší (rozdíly v sekvenci DNA)



dvoušroubovice DNA

Obr. 4 (Rosypal, 1989),  
upraveno





# VYŠETŘENÍ CHROMOSOMŮ

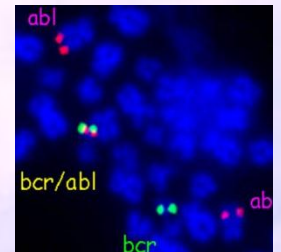
vyšetření v laboratořích  
**klasické** a **molekulární** cytogenetiky

klasická cytogenetika – kultivace, zpracování vstupních materiálů založeny na obdobných principech

- **G-pruhování chromosomů**

molekulární cytogenetika – **metoda FISH, SKY, CGH a další metody**

stanovujeme **KARYOTYP MALIGNÍCH KLONŮ** –  
v nádorové tkáni mohou být přítomny skupiny buněk s odlišným karyotypem – klony – v rámci klonu stejný karyotyp



Obr. 5 (Dokumentace OLG FN Brno)

# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE u onkologických pacientů

– souvisí se vznikem a progresí onkologického onemocnění (poruchy dělení somatických buněk), vyšetřujeme buňky postižené nádorovým bujením

- **početní abnormality**
- abnormality počtu chromosomových sad (obv. se nejedná o přesný násobek haploidního počtu)
  - polyploidie (hypo-, hyper- (di-, tri- atd.) ploidie)
- abnormality počtu chromosomů v páru
  - aneuploidie (trisomie, monosomie)- často se týká jiných chromosomů než u vrozených chromosomových aberací
- **strukturní abnormality**
- translokace, inverze, delece, duplikace, inzerce, zvláštní typy chromosomů – konkrétní aberace odlišné od VCA
- amplifikace (mnohonásobné zmnožení onkogenu, detekovatelné cytogeneticky)
  - pouze u onkologických pacientů

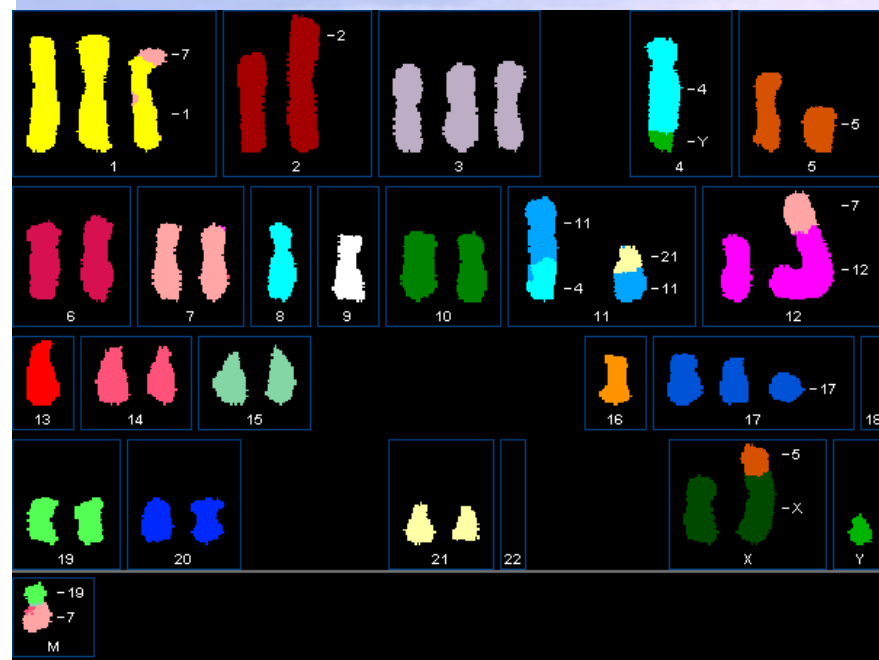


# ONKOCYTOGENETIKA

## komplexní karyotyp

56,XY,der(X)t(X;5),+der(1),add(2),+3,der(4)t(4;?),+6?,+8,  
+10,der(11),+der(11)t(11;21)?,+der(11),+der(12)t(7;12)  
qdp(12p),+17,der(18)

smíšený germinální tumor



Obr. 6 (Dokumentace OLG FN Brno)

# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (u onkologických pacientů) MOZAICISMUS

- nádorové buňky tvoří klony
- **klon - skupina geneticky identických buněk** – z pohledu cytogenetiky **se stejným karyotypem** (v nádorové tkáni pacienta se může vyskytovat více buněčných klonů, každý z nich nese jiné aberace)

(stanovení **karyotypu maligních klonů**)



# VÝZNAM VYŠETŘENÍ ZÍSKANÝCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ u onkologických pacientů

U **onkologických pacientů** vyšetřujeme buňky postižené nádorovým bujením, v souvislosti s onemocněním vznikají chromosomové změny.

Cytogenetické vyšetření přesněji charakterizuje nádor, typ nalezených aberací vypovídá o prognóze, fázi onemocnění. Pomáhá **zpřesnit diagnózu, stanovit prognózu onemocnění, monitorovat úspěšnost léčby.**

Cílem je záchrana života pacienta.

- některé translokace – vznik fúzních genů, jejichž produkty mají změněnou funkci podporující nebo způsobující nádorové bujení
- některé chromosomové změny souvisejí s horší/ lepší/ střední prognózou



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



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

## **STANOVENÍ % ABERANTNÍCH BUNĚK**

# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (vliv mutagenních faktorů prostředí)

- vlivem mutagenních faktorů prostředí dochází na chromosomech ke změnám (zlomy, vznik di-, tricentrických chromosomů, ring chromosomů ad.)

– **nacházíme různé změny v různých buňkách**

**(v každé buňce může být jiná chromosomová aberace – nejedná se o mozaiku, ale o náhodné změny, v jedné buňce můžeme nalézt 1 změnu nebo i více)**

(stanovení % aberantních buněk, hraniční patologie – **opakovaný nález 5% ab. buněk**)

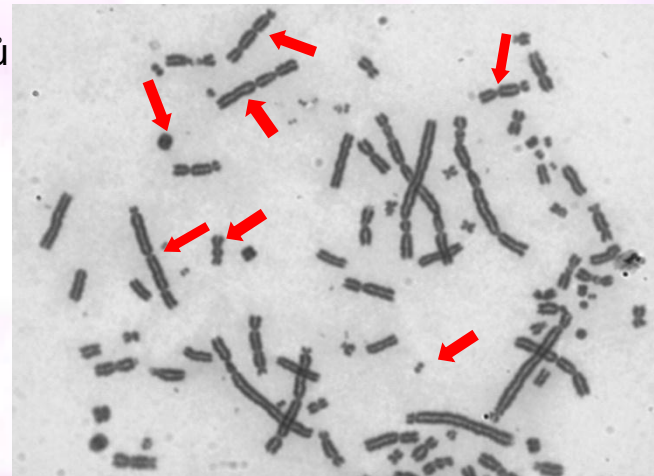
vyšetření z periferní krve metodou klasické cytogenetiky – konvenční barvení chromosomů



chrb



dic



Obr. 7 (Dokumentace OLG FN Brno)



# 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



Obr. 8 (Dokumentace OLG FN Brno)

# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA) 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)

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

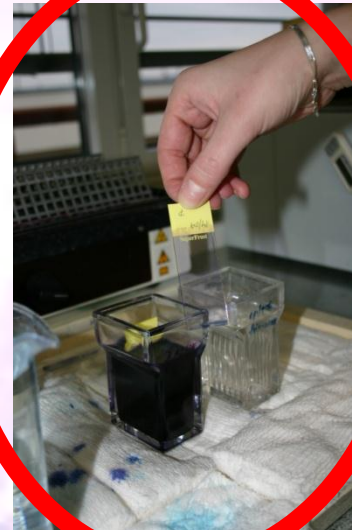
- **konvenční barvení chromosomů**

(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



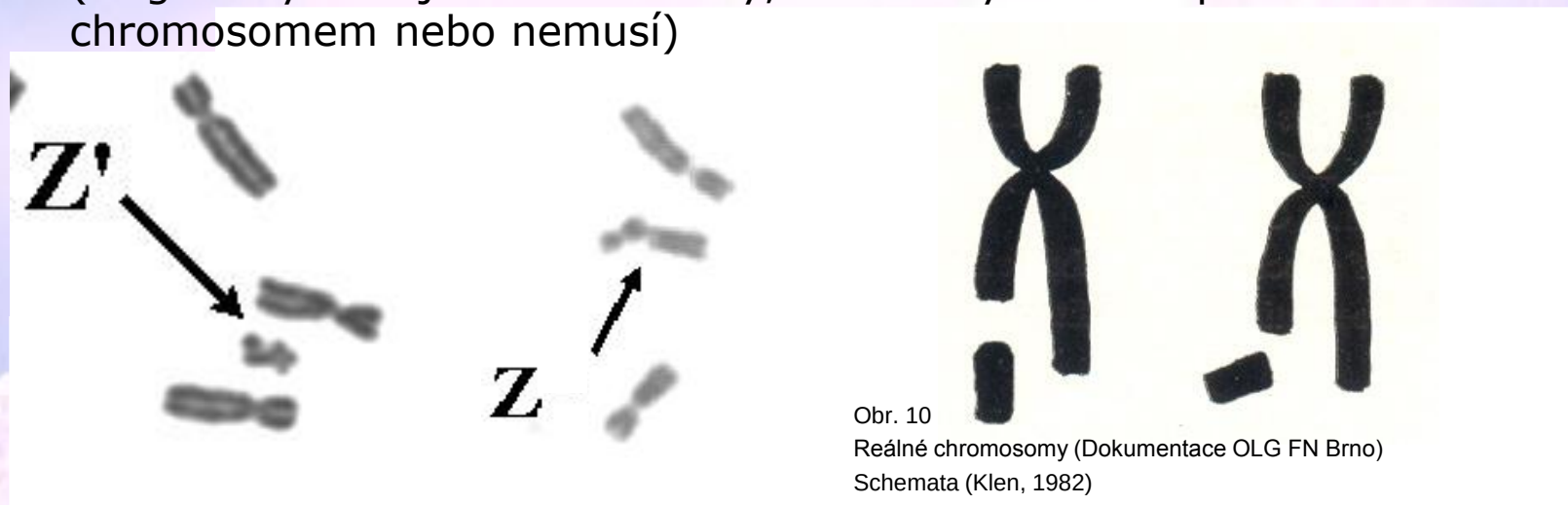
Obr. 9 (Dokumentace OLG FN Brno)

**chromosomy homogenně obarvené po celé délce, bez příčných pruhů**



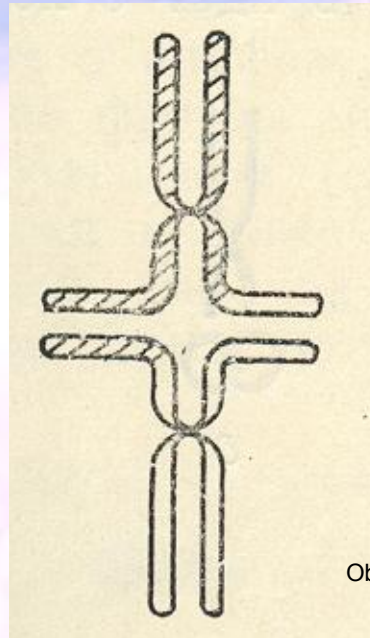
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromatidové aberace označení cht

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



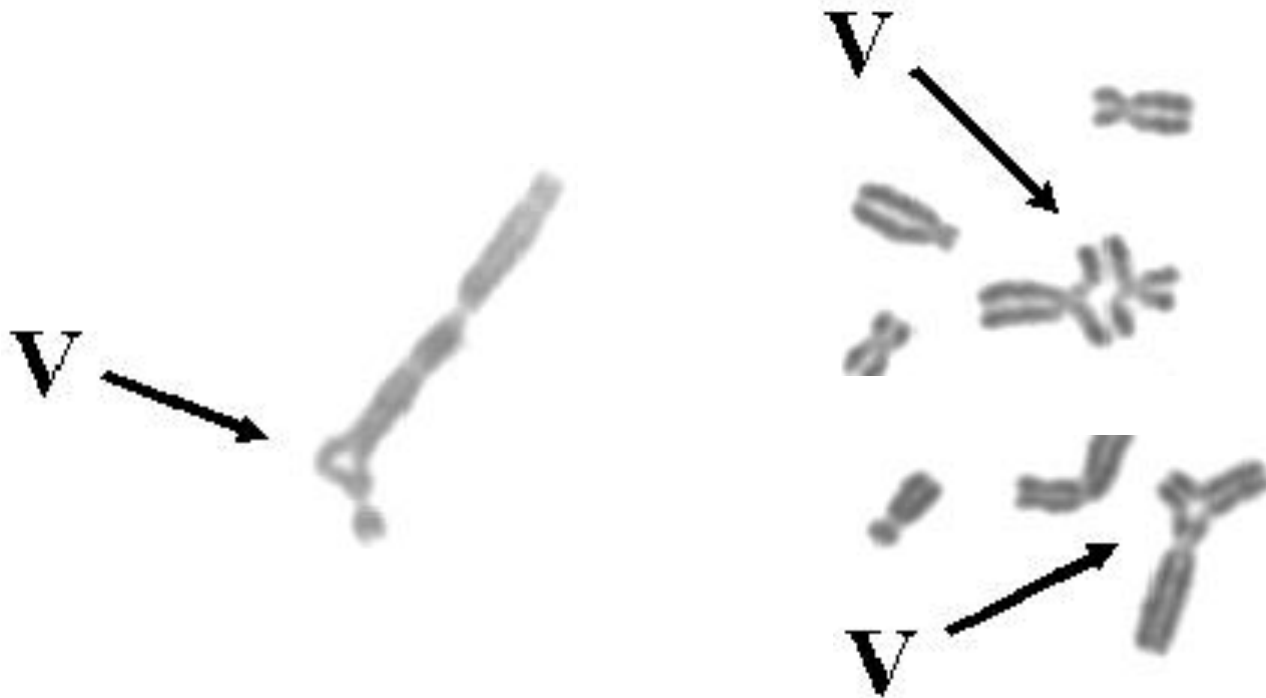
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – **chromatidové aberace** označení cht

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



Obr. 11 (Bočkov, 1971)

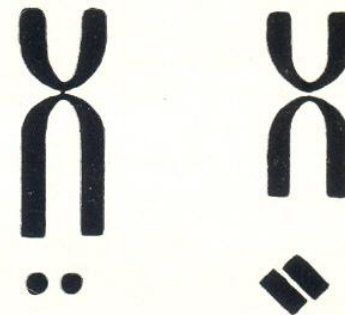
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromatidové aberace - výměny



Obr. 12 (Dokumentace OLG FN Brno)

# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromosomové aberace označení chr

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



Obr. 13

Reálné chromosomy (Dokumentace OLG FN Brno)

Schemata (Klen, 1982)

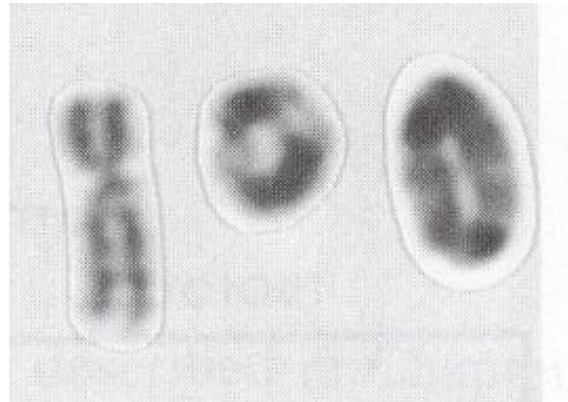
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromosomové aberace označení chr

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

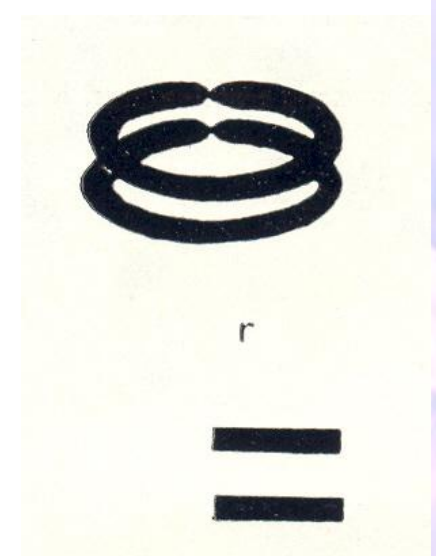
Obr. 16  
Schema (Klen, 1982)



Obr. 14  
Reálné chromosomy (Dokumentace OLG FN Brno)



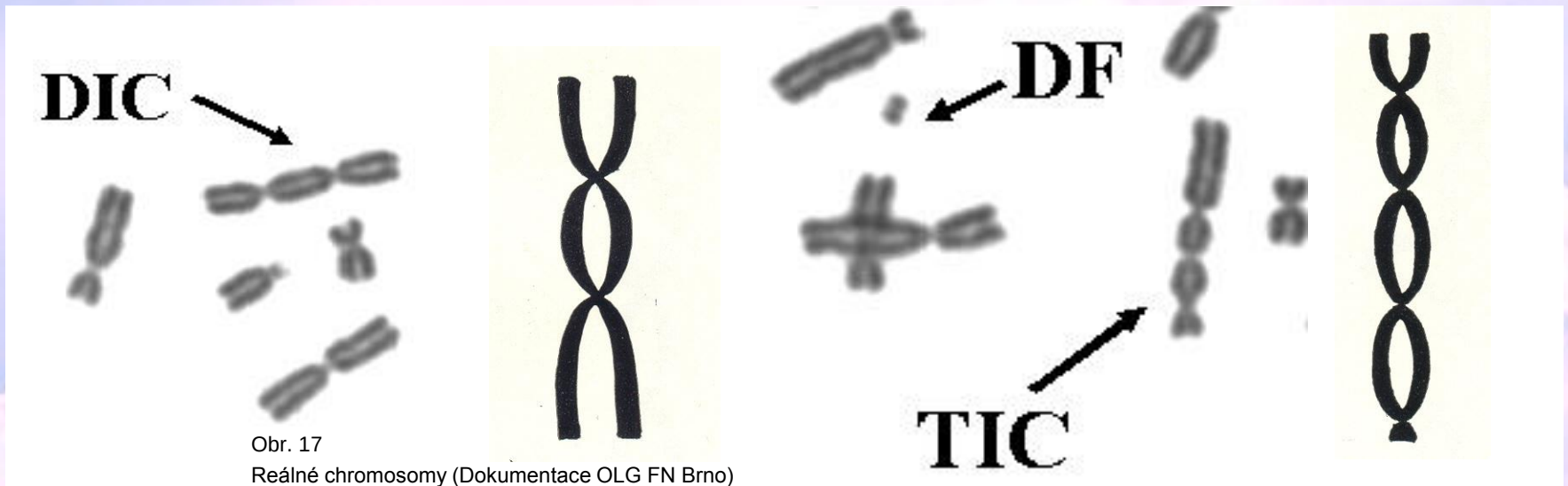
Obr. 15  
Reálné chromosomy (Therman, 1993)





# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromosomové aberace označení chr

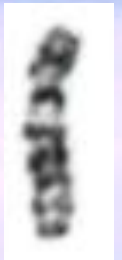
- chromosomy zahrnující více než 1 centromeru-  
dicentrické, tricentrické chromosomy...



# 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



Obr. 18

Reálné chromosomy (Dokumentace OLG FN Brno)



# Klinické indikace k vyšetření ZCA (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 podchycených případů

**aberrace vymizí po léčbě (vitamíny)**

# Použitá literatura

## Text:

- 1) Kuglík P.: Vybrané kapitoly z cytogenetiky, Masarykova univerzita v Brně, 1.vydání, 2000, ISBN 80-210-2334-1
- 2) Kučerová M.: Vrozené a získané poruchy lidských chromosomů, Avicenum, Zdravotnické nakladatelství, 2. doplněné vydání, 1988
- 3) Sršeň, Sršňová: Základy klinické genetiky, Osveta Martin, 2. přepracované a rozšířené vydání, 1995, ISBN 80-217-0477-2
- 4) Therman E., Susman M.: Human Chromosomes, Structure, Behavior, and Effects, Springer – Verlag, Third edition, 1993, ISBN 0-387-97871-2

## Obrázky:

- 1) Bočkov N.P.: Chromosomy človeka i oblučenie, Atomizdat, 1971
- 2) Klen R., Srb V.: Atlas chromozómových aberací, Academia Praha, 1982
- 3) Rosypal S., Rosypalová A., Vondrejs V.: Molekulární genetiky. SPN Praha, 2. přepracované a doplněné vydání, 1989, ISBN 80-04-23117-9
- 4) Therman E., Susman M.: Human Chromosomes, Structure, Behavior, and Effects, Springer – Verlag, Third edition, 1993, ISBN 0-387-97871-2