

INOVÁCIE A SKVALITNENIE MORFOLOGICKÉHO HODNOTENIA CHROMOZÓMOV PRI CYTOGENETICKÝCH VYŠETRENIACH (CALPL)

RNDr. A. GAJDOŠ, CSc., Mgr. A. Bujňák
RÚVZ so sídlom v Košiciach

Cytogenetická analýza ľudských periférnych lymfocytov (CALPL) je sofistikovaným medicínskym vyšetrením s náročným postupom v každom jeho kroku. Objektívna mikroskopická analýza numerických a štrukturálnych zmien je hlavným pilierom CALPL.

V hygienickej praxi v rámci primárnej prevencie rakoviny skupín populácie, ktoré sú profesionálne exponované genotoxickým faktorom a tiež rizikovým faktorom v životnom prostredí, kontrolu rizika mutagenity robíme už 36 rokov práve cez zisťovanie abnormít chromozómov. Úroveň chromozomálnych poškodení (aberácií) slúži ako včasný marker expozície osôb - komplexu všetkých spolupôsobiacich kofaktorov na genetický materiál vyšetrovanej populácie. Výsledok môže byť dôvodom pre nápravné opatrenia či opakované vyšetrenie. Tým chránime rizikové skupiny pred dlhodobou vysokou expozíciou genotoxickým faktorom a vznikom rakoviny

Vyšetrenia viditeľných morfológických zmien a poškodení na chromozómoch somatických buniek – lymfocytov periférnej krvi optickým mikroskopom pri najväčšom možnom zväčšení vyžadujú odborné vedomosti, dlhodobú prax a dodržiavanie odborných kritérií.

Dôvodom digitálnych inovácií je vysoká variabilita morfológických tvarov, zdravých aj poškodených chromozómov, ich extrémne malé rozmery (v nanometroch) a výskyt rôznych netypických tvarov, ktoré treba odlišiť a vylúčiť z mikroskopického hodnotenia. Významná je úloha kompetentného hodnotiteľa, ktorý okrem potrebnej dlhodober praxe, poznania a dodržiavania stanovených kritérií z atlasov pre správne hodnotenie mikroskopických preparátov, absolvoval aj dôležité kurzy hodnotiteľov. Laboratórna prax zahŕňa pri CALPL interné audity a tiež o otestovanie mikroskopickej odbornej zdatnosti z externých referenčných vzoriek, ktoré zabezpečujú špecializované kompetentné pracoviská v našom prípade z ČR.

Pre uplatnenie odborných kvalít hodnotiteľov je potrebné aj adekvátne technické vybavenie a vyššia kvalita optických elementov mikroskopov. Okuláre a objektívy majú byť korigované vo všetkých optických vadách – sférickej, achromatickej a aplatickej. Vysoká kvalita optického systému znižuje chyby subjektívneho hodnotenia, no napriek tomu ide o objekty tak malé, že v komplikovaných a menej kvalitných mitózach, či prekrývajúcich sa morfológických štruktúrach je hodnotenie nálezu nejednoznačné – dubiózne s dvojakým možným výkladom.

Najvyššiu kvalitu dosahujú imerzné objektívy označované ako uplanapochromaty korigované vo všetkých optických vadách (universal infinity corected system). Napriek takémuto špičkovému vybaveniu a maximálnemu zväčšeniu optického mikroskopu už na chromozómoch nemožno vidieť, pre ich malé rozmery v komplikovaných prípadoch, detailne vnútornú štruktúru, napríklad pri prekrývaní sa chromozómov. K týmto prípadom dochádza častejšie pri vyšetrení ako k subjektívnej chybe. Niekedy nejasnosť nálezu vedie k nejednoznačnému výkladu. Pri odborných poradách v minulosti bežne vznikali polemiky. Problémom boli dubiózne (dvojaké) výklady suspektných náleзов. V súčasnosti sa uplatňuje tzv. právny princíp, podľa ktorého pre pochybnosti je mitóza vylúčená alebo odsunutá z hodnotenia.

Inovácie nám v súčasnosti umožňujú digitálnym spracovaním obrazu riešiť niektoré dubiózne podozrivé nálezy a eliminovať množstvo nejednoznačných náleзов. Podstatná zmena v možnosti zlepšenia mikroskopického hodnotenia na Oddelení genetickej toxikológie v Košiciach nastala pred rokom, kedy sme sa stali NRC a bola umožnená obnova laboratórneho vybavenia. Zakúpila sa kamera na snímanie obrazu z mikroskopu s wifi

prenosom na počítač. Zároveň sa testovalo fotenie mobilom cez okulár pomocou držiaka mobilu. Použitie oboch spôsobov umožňuje záznam obrazu nálezov v počítači aj v mobile s možnosťou ďalej ho zväčšovať, upravovať svetelnosť, kontrast, sýtosť a ukladať do databáz, posielat' kolegom na posúdenie formou správ, emailu a podobne. Zakúpil sa pre toto využitie aj služobný mobil s ukladaním obrázkov do formátu JPEG a RAW. Profesionálny formát RAW s numerickým vektorovým ukladaním obrazu umožňuje zväčšenie obrazu a výrezov bez straty ostroty a detailov a tým zdokonaľuje hodnotenia.

Hovorí sa, že mobil je dnes hlavne fotoaparát s možnosťou telefonovania. A naozaj je tu vyspelý softvér na spracovanie obrazu aj z mikroskopu. Zo zábavky a hry sa tak stáva vážny pomocník v profesionálnej práci. Zdokonaľujú sa takto vyšetrenia chromozómov vo fáze mitózy, chromozómy možno svetelne a farebne upravovať, premietat' vo veľkom formáte, digitálne upravovať a tým viac zviditeľňovať morfológické štruktúry potrebné pre objektívne posúdenie nálezov. Prenos kvalitných záberov chromozómov pomáha aj pri vyučovaní, vytváraní atlasov pre štúdium a pre dennú prax hodnotiacich pracovníkov, prepájat' s konkrétnymi klinickými prípadmi a anamnestickými údajmi. Hodnotenia digitálne zaznamenaných obrazov mitóz a chromozómov predovšetkým zdokonaľujú a tiež spríjemňujú celú prácu s mikroskopickým hodnotením poškodení na chromozómoch.