

buněčné linie s variabilním počtem chromozomů. Použití analýzy ABC pro testování genotoxického potenciálu NM komplikuje možnost překrytí metafazických chromozomů shluky NM (zejména při použití vyšších koncentrací). Problémem může rovněž být záměna malých shluků NM za minutu (Obrázek 40). Analýzu ABC nepovažujeme za vhodnou pro testování genotoxického potenciálu uvedených NM na použitých buněčných liniích, protože obě linie vykazovaly vysoký bazální počet aberovaných buněk (přes 50 %).

V jedné metafazické buňce buněčné linie THP-1 bylo nalezeno maximálně 48 chromozomů (centromer). THP-1 buněčná linie je považována v současnosti za téměř diploidní buněčnou linii s 49 chromozomy, ale původně byla popsána jako diploidní linie s karyotypem 46 XY.^{22,23} Někteří autoři uvádějí, že linie získané z různých zdrojů se mohou mírně odlišovat.²⁴ THP-1 buněčná linie tedy není vhodná pro hodnocení numerických aberací, kvůli nestabilnímu počet chromozomů, ani pro hodnocení strukturálních aberací, kvůli přítomnosti minimálně jednoho zlomu v každé druhé hodnocené metafazické buňce. Linie by byla použitelná, pokud by se výsledek udával jako počet zlomů a dalších nálezů na 100 hodnocených metafazických buněk. Od tohoto hodnocení se však obecně upouští pro velkou variabilitu i mezi zkušenými hodnotiteli.¹⁹ Z obdobných důvodů není ABC vhodný pro A549 buněčnou linii, která je hypotriploidní (počet chromozomů se pohybuje kolem 66) a vykazuje vysoký bazální počet mutací.²⁵

Souhrn nejzajímavějších výsledků

ABC se ukázal být nevhodným pro použití na buněčné linii THP-1. Nejčtenější počet centromer (chromozomů) v jedné metafazické buňce byl u námi použité linie 48. THP-1 buněčná linie je považována v současnosti za téměř diploidní buněčnou linii s 49 chromozomy, ale původně byla popsána jako diploidní linie s karyotypem 46 XY.^{22,23} Rovněž se dochází k závěru, že se linie získaná z různých zdrojů mírně odlišuje.²⁴ U námi použité linie jsme zachytili vysoký bazální počet aberovaných buněk (přes 50 %). Proto bylo rozhodnuto, že ABC je nevhodný test pro THP-1 buněčnou linii. Z obdobných důvodů není ABC vhodný pro A549 buněčnou linii, která je hypotriploidní (počet chromozomů se pohybuje kolem 66) a vykazuje rovněž vysoký bazální počet mutací.²⁵ ABC zůstává však významným testem s použitím periferních lymfocytů, zejména pak v epidemiologických studiích, společně s CBMN a CA.

LITERATURA

1. Sabharwal R, Verma P, Syed MA et al. Emergence of Micronuclei as a Genomic Biomarker. *Indian J Med Paediatr Oncol*. 2015;36(4):212–218. doi:10.4103/0971-5851.171541.
2. Ruiz-Ruiz B, Arellano-García ME, Radilla-Chávez P et al. Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Using Human Lymphocytes as a Sensitive Tool for Cytotoxicity/Genotoxicity Evaluation of AgNPs. *ACS Omega*. 2020;5(21):12005–12015. doi:10.1021/acsomega.0c00149.
3. Fenech M. Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay. *Nat Protoc*. 2007;2(5):1084–1104. doi:10.1038/nprot.2007.77.
4. Komárek L. Standardní operační postupy pro biologické monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí. *Acta Hyg Epidemiol Microbiol*. Praha, Česká republika: Státní zdravotní ústav; 2003. 190 s. ISBN: 0862-5956.

5. Hayashi M. The Micronucleus Test Most Widely Used In Vivo Genotoxicity Test. *Genes Environ.* 2016;38:18. doi:10.1186/s41021-016-0044-x.
6. Gonzalez L, Sanderson BJ, Kirsch-Volders M. Adaptations of the In Vitro MN Assay for the Genotoxicity Assessment of Nanomaterials. *Mutagenesis.* 2011;26(1):185–191. doi:10.1093/mutage/geq088.
7. Burgum MJ, Clift MJD, Evans SJ et al. Few-Layer Graphene Induces Both Primary and Secondary Genotoxicity in Epithelial Barrier Models In Vitro. *J Nanobiotechnology.* 2021;19(1):24. doi:10.1186/s12951-021-00769-9.
8. Olive PL, Banáth JP. The Comet Assay: A Method to Measure DNA Damage in Individual Cells. *Nat Protoc.* 2006;1(1):23–29. doi:10.1038/nprot.2006.5.
9. OECD. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4: Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. 2023. doi:10.1787/9789264264861-en.
10. Møller P. Assessment of Reference Values for DNA Damage Detected by the Comet Assay in Human Blood Cell DNA. *Mutat Res.* 2006;612(2):84–104. doi:10.1016/j.mrrev.2005.10.001.
11. Collins A, Koppen G, Valdiglesias V et al. The Comet Assay as a Tool for Human Biomonitoring Studies: The ComNet Project. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2014;759:27–39. doi:10.1016/j.mrrev.2013.10.001.
12. Dvořák M, Matejovičová M. Principy a využití kometové analýzy při detekci poškození DNA. *Chem Listy.* 2008;102:977–983.
13. Dusinska M, Collins AR. The Comet Assay in Human Biomonitoring: Gene-Environment Interactions. *Mutagenesis.* 2008;23(3):191–205. doi:10.1093/mutage/gen007.
14. Afanasieva K, Sivolob A. Physical Principles and New Applications of Comet Assay. *Biophys Chem.* 2018;238:1–7. doi:10.1016/j.bpc.2018.04.003.
15. Mateuca RA, Decordier I, Kirsch-Volders M. Cytogenetic Methods in Human Biomonitoring: Principles and Uses. *Methods Mol Biol.* 2012;817:305–334. doi:10.1007/978-1-61779-421-6_15.
16. Rössner P, Bavorová H, Očadlíková D. Metody biologického monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí: Cytogenetická analýza periferních lymfocytů: Aktualizace platné standardní metodiky (Příloha AHEM 20/89). *Acta Hyg Epidemiol Microbiol.* Praha, Česká republika: Státní zdravotní ústav; 2000. 27 s.
17. Grujičić D, Radović M, Arsenijević S, Milošević-Djordjević O. Cytogenetic Biomarkers in Detection of Genotoxic Effects of Gestagens in Peripheral Blood Lymphocytes In Vitro and In Vivo. *Eur J Med Genet.* 2016;59(12):624–633. doi:10.1016/j.ejmg.2016.10.009.
18. Cerná M, Krsková A, Cejchanová M, Spěváčková V. Human Biomonitoring in the Czech Republic: An Overview. *Int J Hyg Environ Health.* 2012;215(2):109–119. doi:10.1016/j.ijheh.2011.09.007.
19. Registre M, Proudlock R. The In Vitro Chromosome Aberration Test. In: *Genetic Toxicology Testing: A Laboratory Manual.* Boston, MA: Academic Press; 2016:207–267. doi:10.1016/B978-0-12-800764-8.00007-0.
20. Natarajan AT. Chromosome Aberrations: Past, Present and Future. *Mutat Res.* 2002;504(1–2):3–16. doi:10.1016/s0027-5107(02)00075-1.
21. Tichy A, Kabacik S, O'Brien G et al. The First In Vivo Multiparametric Comparison of Different Radiation Exposure Biomarkers In Human Blood. *PLoS One.* 2018;13(2):e0193412. doi:10.1371/journal.pone.0193412.
22. Odero MD, Zeleznik-Le NJ, Chinwalla V, Rowley JD. Cytogenetic and Molecular Analysis of the Acute Monocytic Leukemia Cell Line THP-1 with an MLL-AF9 Translocation. *Genes Chromosomes Cancer.* 2000;29(4):333–338. doi:10.1002/1098-2264(2000)9999:9999<::AID-GCC1040>3.0.CO;2-Z.
23. Tsuchiya S, Yamabe M, Yamaguchi Y, Kobayashi Y, Konno T, Tada K. Establishment and Characterization of a Human Acute Monocytic Leukemia Cell Line (THP-1). *Int J Cancer.* 1980;26(2):171–176. doi:10.1002/ijc.2910260208.

24. Adati N, Huang MC, Suzuki T, Suzuki H, Kojima T. High-Resolution Analysis of Aberrant Regions in Autosomal Chromosomes in Human Leukemia THP-1 Cell Line. *BMC Res Notes*. 2009;2:153. doi:10.1186/1756-0500-2-153.
25. Peng KJ, Wang JH, Su WT, Wang XC, Yang FT, Nie WH. Characterization of Two Human Lung Adenocarcinoma Cell Lines by Reciprocal Chromosome Painting. *Dongwuxue Yanjiu*. 2010;31(2):113–121. doi:10.3724/SP.J.1141.2010.02113.
26. Svadlakova T, Hubatka F, Turanek Knotigova P et al. Proinflammatory Effect of Carbon-Based Nanomaterials: In Vitro Study on Stimulation of Inflammasome NLRP3 via Destabilisation of Lysosomes. *Nanomaterials*. 2020;10(3):418. doi:10.3390/nano10030418.
27. Svadlakova T, Kolackova M, Vankova R et al. Carbon-Based Nanomaterials Increase Reactivity of Primary Monocytes towards Various Bacteria and Modulate Their Differentiation into Macrophages. *Nanomaterials*. 2021;11(10):2510. doi:10.3390/nano11102510.
28. Svadlakova T, Hubatka F, Masek J et al. Activation of NLRP3 inflammasome as a Key Indicator of Carbon Nanotubes Proinflammatory Potential. *Eur J Immunol*. 2019;49:601.