

Вања Д. Томић*Универзитет у Источном Сарајеву
Педагошки факултет у Бијељини

УДК 575

DOI 10.7251/NS1601276T

Оригинални научни рад

ВРСТЕ И ЗАСТУПЉЕНОСТ НУМЕРИЧКИХ ХРОМОЗОМСКИХ АБЕРАЦИЈА У НАЛАЗИМА КАРИОТИПА ПЛОДА НА ПОДРУЧЈУ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

Апстракт: Хромозомске аберације представљају одступање од нормалног броја или нормалне структуре хромозома и могу се подијелити на нумеричке и структурне, којима могу бити захваћени аутозомни и полни хромозоми. Најчешћи аутозомни нумерички поремећај код живорођене дјеце је Даунов синдром (ДС) који је по својим фенотипским карактеристикама препознатљив већ при рођењу. Остале тризомије које су компатибилне са преживљавањем јесу Патау синдром и Едвардсов синдром. Хромозомском анализом обично се открива класична тризомија, код Патау синдрома тризомија 13, а код Едвардсовог, тризомија 18. Када је ријеч о хромозомским болестима полних хромозома, најчешће се јављају Клинефелтеров синдром (КС) са хромозомском конституцијом 47,XXY, те Тарнеров синдром где је у кариотипу присутан само један X хромозом (45,X), који је, углавном, поријеклом од мајке. Пренаталним узорковањем којим је обухваћено 3113 анализа нађено је 1,16% свих нумеричких аберација, од којих 0,98% аберација везано за аутозомне хромозоме, те 0,015% аберација везаних за болести полних хромозома.

Кључне ријечи: пренатална дијагностика, нумеричке хромозомске аберације, амниоцентеза.

Увод

Најчешћи аутозомни нумерички поремећај код живорођене дјеце је Даунов синдром који је по својим фенотипским карактеристикама препознатљив већ при рођењу. Даунов синдром се може јавити у неколико варијанти. У 92–95% случајева је проузрокован слободном тризомијом хромозома 21, а додатни хромозом је у више од 90% случајева мајчиног поријекла, док су студије ДНК показале да је најчешћи узрок нераздвајање у мејози 1 оогенезе. Критичан регион на хромозому 21 за настанак овог синдрома је 21q21. Робертсонова транслокација је одговорна за приближно 4% случајева Дауновог синдрома, од којих је за једну трећину утврђено да је носилац транслокације један од родитеља. Мозаички тип Дауновог синдрома може се дијагностификовати код 1% пацијената и тада се при хромозомској анализи уочава присуство два клона, једног нормалног и једног тризомичног, са вишком хромозома 21. Процент тризомичних ћелија варира од 11 до 70%,

* vanja.tomic@pfb.ues.rs.ba

а настају као резултат нераздвајања хромозома 21 у ћелијским диобама у току ембриогенезе. Са клиничког аспекта, мозаици су блажи облици Дауновог синдрома у поређењу са комплетном тризомијом 21 (Carpenter 2002, стр. 769–778). Остале тризомије које су компатибилне са преживљавањем јесу Патау синдром и Едвардсов синдром.

Хромозомском анализом обично се открива класична тризомија, код Патау синдрома тризомија 13, а код Едвардсовог, тризомија 18. Због мултиплних конгениталних малформација 50% овакве дјеце умире у току првог мјесеца. У кариотипу код пацијената са Патауовим синдромом у 70–80% случајева присутна је тризомија 13, која најчешће настаје као посљедица нераздвајања хромозома у мејози мајке (47, XX или 47, XY+ 13). Код 5% ових пацијената тризомија је присутна у мозаику, а док у 20% случајева синдром се јавља као посљедица присуства Робертсонове транслокације која укључује хромозом 13, код једног од родитеља (Stipoljev, 2004, стр. 192–196).

Када је ријеч о Едвардсовом синдрому, од 80 до 90% пацијената у кариотипу је присутно 47 хромозома са вишком хромозома 18 (47, XX или 47, XY), који настаје као посљедица нераздвајања хромозома, најчешће у оогенези. Мозаичан кариотип се може наћи код 10% пацијената, или чак и као парцијална тризомија која настаје као посљедица присуства балансиране транслокације или инверзије (око 5%) која укључује хромозом 18, код једног или оба родитеља. Што је удио тризомних ћелија мањи, то је фенотипска слика плода блажа. Око 28% плодова у другом тромјесечју и 87% плодова у трећем тромјесечју заостају у развоју. Ризик за поновно рађање дјетета са овим синдромом је иста као и код синдрома Патау (1%), осим уколико један од родитеља није носилац балансиране транслокације парцијалне тризомије 13, онда је ризик знатно већи, те се стога родитељима препоручује пренатална дијагностика (Turnpenny, Ellard, 2007, стр. 127–131). Због овако тешке клиничке слике већина дјеце умире још у првим данима или мјесецима свога живота, а свега 10% преживи своју прву годину.

Присуство додатног полног хромозома (X или Y) изазива само благи фенотипски ефекат. Мушкарци са Клинефелтеровим синдромом (КС) имају хромозомску конституцију 47,XXY која је посљедица нераздвајања хромозома у мејози оца или мајке. Ово је релативно честа болест која има инциденцу 1 : 500 живорођене дјеце мушког пола. Код оваквих особа у размазу букалне слузокоже може се појавити једно или више Барових тијела, у зависности од броја присутних X хромозома. Мањи проценат пацијената са Клинефелтеровим синдромом има мозаичан кариотип. Друга најчешћа полна хромозомска аберација која је дијагностификована у овом истраживању је Тарнеров синдром. Синдром Тарнер је хромозомски поремећај који се јавља код 1 од 70 земака. Око 95% таквих плодова се

спонтано побације у првом тромјесечју трудноће. Учесталост овог синдрома код живорођене дјеце износи 1:2500 (Van Zelen 2002, стр. 94–98). У преко 50% пацијената са Тарнеровим синдромом у кариотипу је присутан само један X хромозом (45,X), који је, углавном, поријеклом од мајке. Овакве особе немају Барово тијело у размазу букалне слузокоже. У одређеном проценту пацијената са Тарнеровим синдромом дијагностификује се мозаичан кариотип 45,X/46,XX и овакве особе могу бити фертилне. У случају да у другој ћелијској линији постоји материјал хромозома Y, мора се испитати дискгенезија гонада, јер такве гонаде могу малигно да алтерирају и као такве, треба их хируршки одстранити (Yuan et al, 2000, стр. 113–118).

Методологија

Испитанице и методе

У овом истраживању узорак чине труднице (n=3113) којима је након показаних индикација за амниоцентезу извршена цитогенетичка анализа феталног кариотипа из плодове воде. Истраживање је рађено у цитогенетичкој лабораторији Клиничког центра Бања Лука. Труднице које су обрађиване у овом истраживању долазе из различитих дијелова Републике Српске, различите су старосне доби као и нивоа образовања. Клинички центар Бања Лука је једна од установа у Републици Српској гдје се ради пренатална дијагностика кариотипизације плода, те се ови резултати односе само на труднице које су се одлучиле да овај дијагностички поступак ураде у нашој установи.

Поступак методе

Кариотипизација плода урађена је из 3 113 узорака добијена поступком амниоцентезе у Клиничком центру Бања Лука. Метода кариотипизације плода из ћелија плодове воде је комплексна и састоји се од неколико фаза: култивације, промјене медијума у културама, трипсинизације, обраде, прављења препарата, бојења ГТГ техником за добијање Г трака и анализе препарата.

Резултати

Од 3 113 анализираних узорака, утврђено је 31 (0,98%) случаја анеуплоидија 21, 13, 18, те 3 случаја синдрома Тарнер (0,09) и 2 случаја Клинефелтеровог синдрома (0,06%) што чини укупно 36 (1,15%)

дијагностификованих нумеричких хромозомских аберација. Најчешће хромозомске аберације које су дијагностификоване приказане су у Табели 1 и у Графикону 1.

Табела 1. Приказ трудница код којих је откривен плод са најчешћим аберацијама хромозома, по годинама и индикацијама у Клиничком центру Бања Лука

Најчешће хромозомске аберације	Број трудница (%)	Године трудница	Индикације за амниоцентезу
Тризомија 21	24 (0,77%)	21–44	УЗ,НТ,БХМ,године труднице
Тризомија 13	3(0,09%)	29–33	БХМ (2 случаја) ДС у породици (1 случај)
Тризомија 18	4 (0,12%)	26–34	БХМ, НТ, УЗ
Тарнеров синдром	3 (0,09%)	32–38	малформације плода,године труднице
Клинефелтеров синдром	2 (0,06%)	35–37	године труднице
Укупно:	36 (1,15%)		

Као најчешћа нумеричка аберација Даунов синдром је утврђен у 24 случаја (0,77%), а затим ЕС у 4 случаја (0,16%) и ПС у 3 (0,09%). Анеуплоидије полних хромозома су утврђене у 3 случаја (0,08%) за Тарнеров и за Клинефелтеров синдром, док је у преостала 3 077 (98,8%) случаја анализе кариотипа налаз плода био уредан.

На Графикону 1 дат је приказ постотака појединачних хромозомских аберација од укупног броја дијагностификованих хромозомопатија (36).



Графикон 1. Графичи приказ хромозомских аберација дијагностификованих у КЦ Бања Лука

Од укупног броја дијагностификованих хромозомопатија (36), 67% чини Даунов синдром, што је уједно и највећи постотак. Затим слиједи тризомија 18 са 11%, те тризомија 13 и Тарнеров синдром који имају по 8%. Клинефелтеров синдром има најмању учесталост, што износи 6% од укупног броја аберација.

Дијагностици свих хромозомопатија 36 (1,15%) претходиле су различите индикације које су указивале да би требало урадити поступак амниоцентезе. Код Дауновог синдрома индикације за амниоцентезу до 34 године живота биле су абнормалан ултразвучни налаз, поремећене вриједности биохемијских маркера и абнормалан налаз нухалне транслуцијенције. Код трудница преко 35 година живота, а код којих је дијагностификован Даунов синдром плода, индикације су биле искључиво старосна доб труднице. На слици 1 приказан је кариотип плода са Дауновим синдромом.



Слика 1. Даунов синдром плода 47,XX+21, техника ГТГ трака

У случајевима тризомије 13 поремећене вриједности биохемијских маркера, у 2 случаја били су индикација да се уради кариотипизација плода, док је у 1 случају Даунов синдром у породици био показатељ да се уради ова дијагностичка процедура. Слика 2 показује кариотип плода с Патауовим синдромом.



Слика 2. Приказ феталног кариотипа мушког пола са трисомијом 13 (Патау синдром) и Робертсономовом транслокацијом на акроцентричним хромозомима 13 и 14. $46,XY\ rob(13;14)(q10;q20) +13$, техника ГТГ трака.

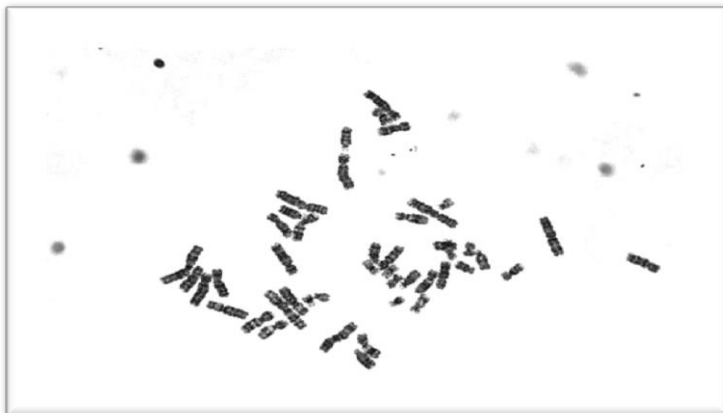
Када је ријеч о трисомији 18 у сва 4 случаја индикације су биле абнормалан ултразвучни налаз, поремећене вриједности биохемијских маркера (АФП, бета подјединица хЦГ, и уЕ3), те абнормалан налаз нухалне транслуцијенције. На Слици 3 показан је кариотип плода с Едвардсовим синдромом.

Слика 3. Кариотип плода са Едвардсовим синдромом, трисомија 18. $47,XY$



$+18$, техника ГТГ трака.

Полне хромозомопатије, првенствено Тарнеров синдром који је дијагностификован у 3 случаја, малформације плода и старосна доб труднице били су једини индикатори да би се урадила кариотипизација плода. На слици 4 дат је приказ кариотипа плода са Тарнеровим синдромом добијен у Клиничком центру Бања Лука.



Слика 4 . Кариотип плода са Тарнеровим синдромом 45,X(15)46,XX(15), техника ГТГ трака

У преостала 2 случаја полних хромозомских абериација (Клинефелтеров синдром), индикације за амниоцентезу су биле искључиво године труднице (35-37). Слика 5 приказује кариотип плода са Клинефелтеровим синдромом добијен у Клиничком центру Бања Лука.



Слика 5. Кариотип плода са Клинефелтеровим синдромом 47,XXY,техика ГТГ трака.

Број трудница са плодом код којих је дијагностификован Даунов синдром износи 24. Најмлађа трудница код које је дијагностификован плод са

Дауновим синдромом има 21 годину, а најстарија 44. У табели 2 дат је приказ трудница код којих је откривен плод са Дауновим синдромом по годинама и индикацијама.

Табела 2. Приказ броја трудница код којих је откривен плод са Дауновим синдромом, по годинама и индикацијама

Број трудница са плодом са ДС	Године труднице	Индикације
1	21	УЗ, НТ, БХМ
3	32 – 34	БХМ, НТ
6	37	године труднице
7	38 – 39	године труднице
3	40	године труднице
2	42	године труднице
1	43	године труднице
1	44	године труднице
Укупно: 24		

Од укупног броја дијагностификованих Дауновог синдрома код плода (24), најмлађа трудница имала је 21 годину, што се десило у 1 случају, а индикације за амниоцентезу су били абнормалан УЗ налаз, поремећене вриједности БХМ као и нухалне транслуцијенције. У 3 случаја труднице су биле у старосној доби између 32 и 34 године, а амниоцентеза је била индикована поремећеним вриједностима биохемијских маркера као и абнормалним налазом нухалне транслуцијенције. Остале труднице су биле у старосној доби преко 35 година, те су индикације за поступак амниоцентезе биле искључиво старосна доб труднице. Уколико се анализира учесталост Дауновог синдрома према полу дјетета, у 54,1% или 13 случајева дијагностификован је код мушког пола, док је 45,8% или у 9 случајева дијагностификован код женског пола, што се може видјети из Табеле 3.

Табела 3. Приказ учесталости Дауновог синдрома према полу

Пол	Број	Кариотип
Мушки	13 (54,1%)	47,XY+21
Женски	11 (45,8%)	47,XX+21
Укупно:	24 (100%)	

У табели 3. приказан је Патау синдром у односу на кариотип плода. Од укупног броја дијагностификоване тризомије 13, у 2 случаја кариотип плода је слободна тризомија 47,XX +13 (женски пол), док је у 1 случају Патау синдром дијагностификован као Робертсонова транслокација 46,XY,rob(13;14)(q10;q10),+13 (мушки пол), што се може видјети из Табеле 4.

Табела 4. Приказ Патау синдрома у односу на кариотип

Број	Кариотип
2 (66,7%)	47,XX+13
1 (33,3%)	46,XY,rob(13;14)(q10;q10),+13
Укупно:	3 (100%)

Уколико се анализира синдром Патау према полу дјетета, од укупног броја дијагностификованих у 3 случаја утврђен је женски пол 47,XX+18, те у 1 случају мушки пол плода 47,XX,и(18)(p10),и(18)(q10), што се види из приказа у табели 5.

Табела 5. Приказ Едвардсовог синдрома у односу на кариотип

Број	Кариотип
3 (75%)	47,XY+18
1 (25%)	47,XX,и(18)(p10),и(18)(q10)
Укупно:	4 (100%)

Осим нумеричких аберација хромозома могу се открити и структурни хромозомски реаранжмани као што су балансиране и небалансиране

транслокације, Робертсонове транслокације, инверзије, као и делеције и инсерције веће од 4Мбп. Од инверзија се најчешће јавља инверзија хромозома 9, која је откривена у 27 случајева или 0,86% , а која представља инверзију конститутивног хетерохроматина и која се сматра нормалном хромозомском варијантом, а заступљена је у популацији са учесталошћу око 1%.

Закључак

Резултати ове студије добијени на основу цитогенетичких анализа плода, показују да је Даунов синдром најчешће утврђена хромозомска аберација са учесталошћу 0,77% , 24/3113 случајева, док су Turnpenny и Ellard (2007, стр. 156 – 162) навели да је инциденца Дауновог синдрома 15 случајева на 10 000 новорођенчади, док је инциденца осталих тризомија знатно мања. Такође, утврђена су 4 случаја Дауновог синдрома код трудница у доби млађој од 35 година, док је у 20 случајева Даунов синдром утврђен у категорији од 37 до 44 године, што је у складу са податком да се учесталост Дауновог синдрома повећава са годинама труднице (Turnpenny и Ellard 2007, стр. 129). Већина трудница које су радиле кариотипизацију плода у Клиничком центру Бања Лука, а које су носиле плод са Дауновим синдромом су биле старије од 37 година, изузимајући једну трудницу, старости 21 годину. Код ове труднице индикација за амниоцентезу су биле патолошке вриједности биохемијског скрининга (double тест), који је указао на повећан ризик за рађање Дауновог синдрома. Увођење овог тестирања трудницама млађе животне доби у Клиничком центру Бања Лука, омогућило је да буду упућене на амниоцентезу, у случају патолошког биохемијског скрининга. Сличне податке наводе и многи аутори (Guć-Šćekić, Radivojević 2009, стр. 58), јер се и у њиховим подацима учесталост тризомије 21 повећава са старашћу труднице. Ови аутори наводе да је инциденца Дауновог синдрома код трудница у раним двадесетим годинама знатно нижа (1:1500) него код трудница са 45 година (1:30). Утврђена је и већа заступљеност Дауновог синдрома код плодова са мушким кариотипом. У овом истраживању, од укупног броја дијагностификованих плодова (24 случаја) са тризомијом 21, резултати показују да је било 13 дјечака са овом аберацијом, што износи 54,1 %. С друге стране Даунов синдром код женског пола регистрован је у 11 случајева или 45,8%. Како наводе Диклић и сар. (2001, стр. 66) Даунов синдром је чешће заступљен код дјечака него код дјевојчица (3:2). Утврђивање Дауновог синдрома код трудница млађих од 35 година, упућује на значај примјене комбинованог скрининг теста, који се такође проводи у Клиничком центру Бања Лука. Захваљујући тим тестовима цитогенетичком анализом плода открили су се и други случајеви тризомија.

Остале тризомије које су дијагностификоване у овом истраживању су Патау синдром и Едвардсов синдром. Међу 3 откривена случаја Патау синдрома, 2 су имали слободну тризомију 13, док је један случај посљедица структурног реаранжмана хромозома 13 и 14 - Робертсонова транслокација. Подаци који су добијени у овом истраживању се не подударају са подацима које наводе (Schrock et al, 1997, стр. 266 – 262). У њиховом истраживању се наводи да код 5% ових пацијената тризомија је присутна у мозаику, а док у 20% случајева синдром се јавља као посљедица присуства Робертсонове транслокације која укључује хромозом 13, код једног од родитеља, што није случај у подацима који су добијени у Клиничком центру Бања Лука. С обзиром да није испитан кариотип родитељима, не може се јасно тврдити да ли је утврђени кариотип посљедица Робертсонове транслокације код једног од родитеља, или је настао *de novo*.

Од 4 утврђена случаја Едвардсовог синдрома, 3 (75%) су била са слободном тризомијом 18, док је један случај (25%) имао риједак хромозомски реаранжман са присуством изохромозома 18 и за дуге и за кратке краке, осим којих је био присутан и један слободан хромозом 18. Овај реаранжман такође представља Едвардсов синдром, због присуства количине хромозомског материјала, која је иста као и код слободне тризомије 18 и оставља исте фенотипске посљедице. Stipoljev (2004, стр. 192–196) у својим студијама износи да око 85% плодова има вишак хромозома или слободну тризомију 18, што се поклапа са нашим подацима. Даље наводи да се мозаичан облик тризомије 18 јавља у 10% случајева, док је 5% резултат транслокацијског размјештања. Насупрот горе наведеним подацима, на такве проценте не наилазимо у овом истраживању. Утврђивањем ријетких хромозомских реаранжмана анализом пренаталног кариотипа, омогућује се испитивање кариотипа родитељима и превенција рађања дјете са небалансираним кариотипом у будућим трудноћама. У овим случајевима пренатална дијагностика је од пресудног значаја.

Нешто је мањи број откривених случајева Тарнеровог и Клинефелтеровог синдрома. Од укупног броја анализираних кариотипа (3113), нађена су 3 случаја Тарнеровог синдрома (0,09%) и 2 случаја Клинефелтеровог синдрома (0,08%). У својим радовима Van Zelen Sprock и сар. (1992, стр. 94 – 98) наводе да разлог томе може бити и то што се у 98% случајева плодови са 45,X конституцијом спонтано одбацују, па их вјероватно велики број и не дочека период гестације, у коме се изводи амниоцентеза, а Клинефелтеров синдром има само благи фенотипски ефекат и код трудница млађе животне доби, тако да вјероватно остају неоткривени у пренаталном периоду. Један од три случаја Тарнеровог синдрома је утврђен из ткива побаченог плода. Индикација код ове труднице као и код труднице

код које је дијагностификован Клинефелтеров синдром су, такође, биле патолошке вриједности биохемијских маркера.

Од укупног броја трудница код којих је урађена амниоцентеза а код којих су нађене хромозомске аберације, индикације за ову процедуру су биле различите. У 24 случаја трудница код којих је дијагностификован Даунов синдром индикације за амниоцентезу су биле абнормалан ултразвучни налаз, абнормалне вриједности биохемијских маркера (АФП, бета подјединица хЦГ), као и старосна доб труднице (35 година). Код тризومیје 13, у два случаја индикације за амниоцентезу су биле биохемијски маркери, док је један случај био индикуван претходним случајем Дауновог синдрома у породици. Што се тиче тризومیје 18, у 4 случаја показатељи су били абнормални налази биохемијских маркера, абнормалан налаз нухалне транслуценције, као и уочене малформације плода под контролом ултразвука. Када је ријеч о полним хромозомопатијама, код три труднице је дијагностификован синдром Тарнер, а индикације за амниоцентезу су биле малформације плода, као и старосне године труднице. Друга најчешћа полна хромозомопатија која је дијагностификована је синдром Клинефелтер. У 2 случаја код трудница код којих се дијагностификовала ова абнормалност једина индикација за амниоцентезу су биле године труднице.

Литература

- Carpenter N. J. (2002). *Molecular cytogenetics: 46 shromosomes, 46 years and counting*. Nat Rev Genet 3, 769–778.
- Diklić V., Kosanović M., Nikolić J., Dukić S. (2001). *Biologija sa humanom genetikom*. Beograd: Medicinska knjiga, Medicinske komunikacije.
- Guć-Ščekić M., Radivojević D. (2009). *Priručnik iz medicinske genetike*. Beograd: Биолошки факултет, Altanova.
- Khoshnood, B., Blondel, B., De Vigan, C., & Bréart, G. (2003). *Effects of maternal age and education on the pattern of prenatal testing: Implications for the use of antenatal screening as a solution to the growing number of amniocenteses*. Am J Obstet Gynecol, 189, 1336–1342.
- Schrock, E., Veldman, T, Ning Y. (1997). *Spectral karyotyping refines cytogenetics diagnostics of constitutional chromosomal abnormalities*. Hum Genet 101, 255–262.
- Stipoljev F., (2004). Prenatalni probir plodova rizičnih za pojavu kromozomskih i genskih poremećaja. *Paediatr. Croat; 48 (Supl 1), 192–196*.
- Turnpenny P., Ellard S. (2007). *Emerijevi Osnovi medicinske genetike*. Zagreb: Medicinska naklada.

- Van Zelen-Sprock R.M., Van Vugt J.M.G., van Gejin H.P. (1992). *First trimester diagnosis of cystic hygroma, course and outcome*. Am J Obstet Gynecol, 167, 94–98.
- Yuan W., Steffansen F.H., Nielsen G.L., Mollar M., Olsen J., Sorensen H.T. (2000). *A population- based chort study of birth and neonatal outcome in orded primipara*. Int. J. of Gynecol & Obset, 68, 113–118

Vanja Tomić

DIAGNOSTICS OF NUMERICAL CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN THE FINDINGS OF FETAL KARYOTYPE IN THE REPUBLIC OF SRPSKA

Summary

Chromosomal aberrations represent a deviation from the normal number of chromosomes, or normal structure and can be divided into numerical and structural, which can affect autosomal and sex chromosomes. The most common autosomal numerical disorder in live born children is Down syndrome (DS), which is by its phenotypic characteristics recognizable at birth. Other trisomies, which are compatible with the survival rate are Patau Syndrome and Edwards Syndrome. Chromosomal analysis usually reveals a classic trisomy, with Patau syndrome, trisomy 13, and in Edwards', trisomy 18. The most common chromosomal diseases of sex chromosomes are Klinefelter syndrome (KS) with chromosome constitution 47, XXY, and Turner syndrome with only one X chromosome (45, X), mainly inherited from the mother. Prenatal diagnostics of 3113 samples 1.16% of all numerical aberrations was found, of which 0.98% aberrations are related to autosomal chromosomes, and 0.015% aberrations are detected in sex chromosomes.

Key words: *prenatal diagnostics, numerical chromosomal abnormalities, amniocentesis*