

# ABERRACJE CHROMOSOMOWE. KLINICZNE SKUTKI ABERRACJI CHROMOSOMOWYCH

Anna Latos-Bieleńska

Katedra i Zakład Genetyki Medycznej Akademii Medycznej w Poznaniu

- Około 0,6% dzieci rodzi się z aberracjami chromosomowymi
- Aberracje występują u 50-60% samoistnie poronionych zarodków
- Aberracje chromosomowe są przyczyną 5% martwych urodzeń
- Aberracje - liczby chromosomów i struktury chromosomów
- Aberracje mogą dotyczyć zarówno chromosomów płci, jak i autosomów
- Są wynikiem mutacji chromosomowej powstałej w komórce rozrodczej któregoś z rodziców lub u bardziej odległego przodka

## **Prawidłowa liczba chromosomów**

46 (23 pary) – w komórkach somatycznych– diploidia

23 – w gametach - haploidia

## **Aberracje liczby chromosomów**

Poliploidia – liczba chromosomów stanowi wielokrotność liczby haploidalnej i jest większa niż diploidalna

triploidia 69 chromosomów

tetraploidia 92 chromosomy

Trisomia – dodatkowy chromosom w danej parze

Monosomia – brak jednego chromosomu w danej parze

## **Aberracje struktury chromosomów**

### *Zrównoważone*

- Translokacje zrównoważone
- Inwersje

### *Niezrównoważone*

- Duplikacje
- Delecje
- Chromosomy pierścieniowe
- Izochromosomy

Chromosomy markerowe – małe dodatkowe chromosomy o nieustalonym pochodzeniu – to aberracje jednocześnie liczby i struktury chromosomów

## ***Aberracje struktury chromosomów:***

1. Translokacje = Przemieszczenie się materiału genetycznego pomiędzy chromosomami

Typy translokacji:

Wzajemne

Robertsonowskie

Insercyjne

2. Inwersja = Chromosom ulega złamaniu w 2 miejscach, a fragment pomiędzy złamaniami ulega odwróceniu o 180 stopni

Inwersja paracentryczna – oba złamania są w obrębie jednego ramienia i odwrócony fragment nie zawiera centromeru

Inwersja pericentryczna – złamania nastąpiły w obydwu ramionach chromosomu i odwrócony fragment zawiera centromer

Inwersja jest aberracją zrównoważoną

3. Delecja = Utrata części chromosomu

Chromosomy pierścieniowe – forma delecji (chromosom pęka w obu ramionach, dystalne części chromosomów ulegają utracie, a pozostała część chromosomu tworzy pierścień)

Są to aberracje chromosomowe niezrównoważone

4. Izochromosom = Nieprawidłowy chromosom, który ma delecję jednego, a duplikację drugiego ramienia

Aberracja niezrównoważona

## Kliniczne skutki aberracji chromosomowych

### Nie zrównoważonych

U zarodka - obumarcie

U dzieci żywo urodzonych

- Zespoły wad wrodzonych z niepełnosprawnością intelektualną
- Niepełnosprawność intelektualna z cechami dysmorfii
- Zaburzenia cielesno-płciowe

### Zrównoważonych

nosiciel aberracji jest zdrowy, ale może mieć niepowodzenia rozrodu (brak ciąży, poronienia samoistne, porody martwe, dzieci z zespołem wad i upośledzeniem umysłowym)

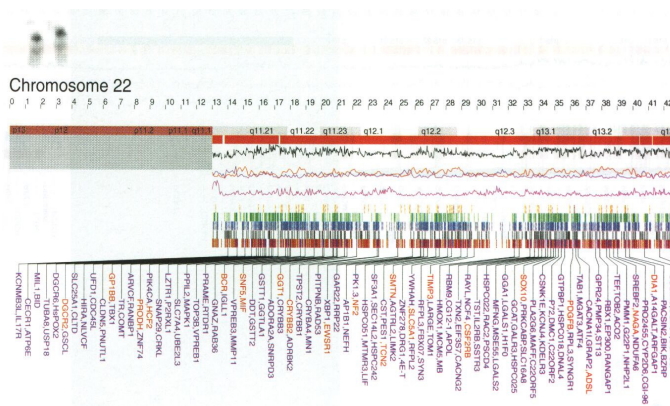
### Fenotyp osoby z niezrównoważoną aberracją chromosomową w zakresie autosomów

- Często dystrofia wewnątrzmaciczna
- Często nieprawidłowy przebieg ciąży (krwawienie z dróg rodnych, nieprawidłowa ilość płynu owodniowego, wady płodu w badaniu USG)
- Wady wrodzone, w tym wady narządów wewnętrznych, często wada serca
- Dysmorfia twarzy, dysplastyczne małżowiny uszne
- Niepełnosprawność intelektualna – zawsze, nawet przy słabo wyrażonych pozostałych w.w. objawach

### Wskazania do określenia kariotypu

- Zespół wad wrodzonych
- Wada wrodzona jednego narządu współistniejąca z opóźnionym rozwojem dziecka
- Opóźnienie rozwoju psychoruchowego, niepełnosprawność intelektualna
- Zaburzenia różnicowania płci
- Niepowodzenia rozrodu (brak ciąży, poronienia, poród martwy, urodzenie dziecka z wadami)
- *Zdrowa osoba planująca potomstwo, w której rodzinie występowały w/wym. zdarzenia*

UWAGA: nawet bardzo mała niezrównoważona aberracja chromosomowa jest molekularnie olbrzymia, oznacza zawsze ubytek lub nadmiar co najmniej dziesiątek, a nawet setek genów, stąd skutki kliniczne muszą być bardzo poważne!



### ***Badanie kariotypu na podstawie hodowli limfocytów krwi obwodowej***

Należy pobrać jałowo do probówki z heparyną ok. 2-5 ml krwi żyłnej (od noworodka 0,5-1 ml) i przesłać do laboratorium cytogenetycznego. Jeśli transport krwi jest następnego dnia, probówkę z krwią należy przechowywać w lodówce (+4 stopnie C). Można też probówkę z krwią przesyłać szybką pocztą

Uwaga: u noworodka z wadami wrodzonymi, który zmarł zanim zdążono pobrać krew na badanie kariotypu, można jeszcze jak najwcześniej (ew. nawet do jednej godziny po zgonie) pobrać krew bezpośrednio z serca

Zakłada się hodowlę limfocytów dodając krew do podłoża hodowlanego zawierającego mitogen fitohemaglutyninę, która stymuluje limfocyty do podziałów. Hodowla jest prowadzona przez 72 godziny w temp. 37 stopni C. Bezpośrednio przed końcem hodowli dodaje się kolchicynę, która hamuje wytwarzanie się niteczek wrzecionka kariokinetycznego, dzięki czemu następuje zatrzymanie limfocytów na stadium metafazy. Kończenie polega na inkubacji limfocytów w roztworze hipotonicznym (umożliwia lepsze rozproszenie chromosomów), a następnie kilkakrotnym dodawaniu mieszaniny kwasu octowego lodowatego z metanolem. Osad komórek nakłada się na szkiełka mikroskopowe, suszy i uzyskuje wzory prążkowe lub wykonuje technikę FISH. Chromosomy analizuje się pod mikroskopem i układa korzystając ze specjalnych programów komputerowych. Od pobrania krwi do wydania wyniku upływa zwykle, stosując techniki klasycznej cytogenetyki, ok. 14 dni, ale wynik można wydać w ciągu 7 dni.

Standardowo analizuje się chromosomy z **wzorem prążkowym GTG** (wzór prążkowy G uzyskiwany poprzez trawienie chromosomów trypsyną i barwienie barwnikiem Giemsy)



Postępowanie w przypadku trudności w wykazaniu aberracji chromosomowej przy zastosowaniu standardowego badania kariotypu (limfocyty krwi obwodowej, klasyczne techniki prążkowe)

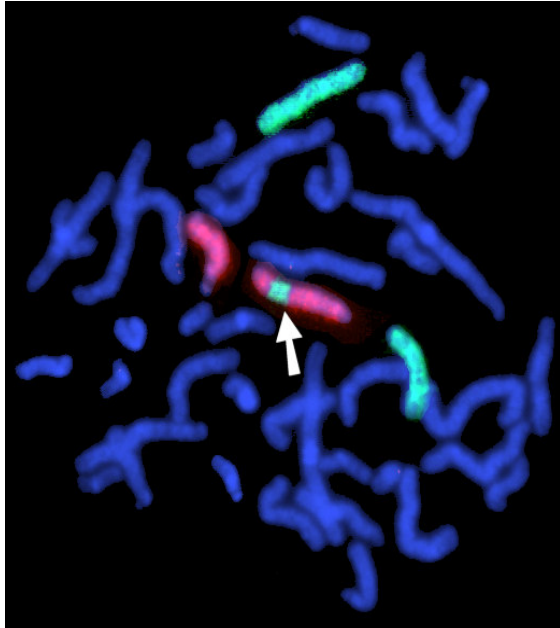
- Analiza większej liczby płytek metafazowych (poszukiwanie mozaikowości)
- Analiza chromosomów prometafazowych (HRBT)
- Badanie kariotypu na podstawie fibroblastów skóry
- Metody cytogenetyki molekularnej – fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH)

FISH (łączy techniki klasycznej cytogenetyki z metodami biologii molekularnej)

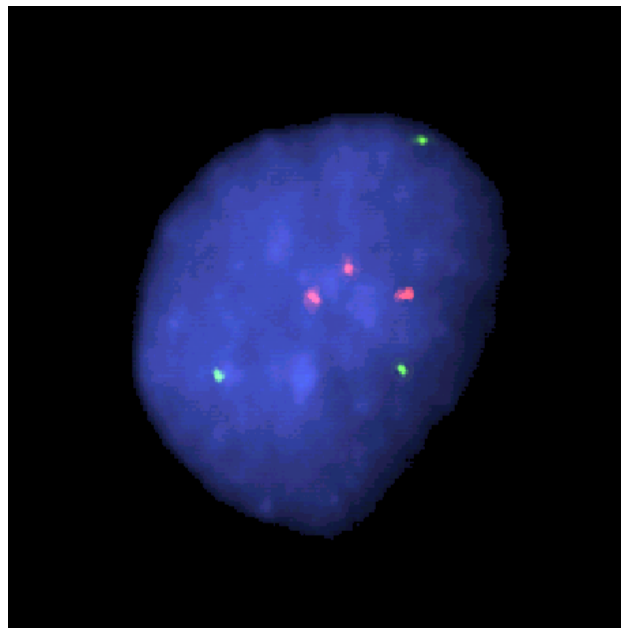
- Metoda polega na hybrydyzacji specjalnie skonstruowanej sondy (fragment DNA), komplementarnej do określonej sekwencji w danym chromosomie.
- Sondę nakłada się na preparat cytogenetyczny (chromosomy leżące na szkiełku podstawowym)
- Sonda jest wyznakowana fluorochromem, co umożliwia obserwację fluorescencji w miejscu specyficznego związania sondy

## Zastosowanie FISH

- Zespoły mikrodelecji – metoda z wyboru
- Aberracje struktury chromosomów trudne do identyfikacji metodami klasycznej cytogenetyki
- Identyfikacja pochodzenia chromosomów markerowych
- Szybka metoda identyfikacji aberracji liczby chromosomów (FISH do jąder interfazowych)
- Badanie aberracji chromosomowych w komórkach nie dzielących się



FISH – widoczna translokacja insercyjna



FISH do jądra interfazowego – triploidia

Konwencjonalne badanie cytogenetyczne, przy liczbie prążków 400-500 na garnitur haploidalny pozwala na uwidocznienie zmian materiału genetycznego wielkości około 10 milionów par zasad (10 Mb = 10000 kb) i większych. Przy zastosowaniu analizy chromosomów prometafazowych rozdzielczość metody wzrasta do 5, a nawet 2-3 Mb (2000-3000 kb), ale badanie staje się trudne, wymagające najwyższych umiejętności cytogenetycznych i czasochłonne. Stosując FISH, można wykryć zmiany materiału genetycznego wielkości 0,5 kb, ale w praktyce klinicznej wystarcza FISH o znacznie mniejszej rozdzielczości.

## Zasady zapisu wyniku badania kariotypu

Na podstawowy zapis kariotypu składa się:

- Liczba określająca całkowitą ilość chromosomów w komórce
- Po przecinku wymienione chromosomy płciowe
- Po przecinku ewentualny opis aberracji

### Uwagi:

- Regiony poszczególnych ramion chromosomu numerowane są kolejnymi cyframi arabskimi, poczynając od centromeru i posuwając się w stronę końców ramion
- Kolejna cyfra arabską numeruje się kolejne prążki w obrębie danego regionu.

W zapisie wyniku badania kariotypu nie używa się spacji, każdy znak (kropka, przecinek, średnik) jest istotny

### Oznaczenia stosowane przy zapisie wyniku badania kariotypu:

t	translokacja
del	delecja
dup	duplikacja
ins	insercja
inv	inwersja
r	chromosom pierścieniowy (ring)

### **Przykłady zapisu wyniku badania kariotypu:**

46,XX            prawidłowy kariotyp żeński

46,XY            prawidłowy kariotyp męski

45,X             zespół Turnera

47,XXY          zespół Klinefeltera

47,XY,+21      chłopiec z zespołem Downa

46,XX,t(2;6)(p12;q21)      dziewczynka/kobieta nosicielka translokacji wzajemnej: wymieniły między sobą fragmenty chromosomy 2 i 6 (złamanie nastąpiło w prążku 12 ramienia krótkiego chromosomu 2 i w prążku 21 ramienia długiego chromosomu 6, fragmenty dystalne wobec punktów złamań uległy wymianie)

46,XY,del(15)(q13.2)      chłopiec/mężczyzna z delecją fragmentu ramion długich chromosomu 15, złamanie nastąpiło w prążku 13.2 i część ramion długich dystalna wobec punktu złamania uległa utraceniu

46,XY,dup(18)(q12q13)      chłopiec/mężczyzna z duplikacją fragmentu ramion długich chromosomu 18, zdwojeniu uległ materiał genetyczny obejmujący prążki od q12 do q13

46,XX,r(22)      dziewczynka/kobieta z chromosomem pierścieniowym 22

46,XX,9qh+      dziewczynka/kobieta, kariotyp prawidłowy, w jednym z chromosomów 9 tzw. wariant polimorficzny – duży blok heterochromatyny podcentromerowej (wg większości piśmiennictwa bez znaczenia klinicznego, chociaż są również doniesienia o częstszym występowaniu u osób z niepowodzeniami rozrodu)

