

Mozaicizmus v súbore reprodukčných strát

Katarína Pašková, Tatiana Braxatorisová¹, Eva Pagáčová¹, Viera Geislerová¹, Mária Ďuríková¹

Mosaicism in The Set of Reproductive Wastage Cases

Súhrn

Predkladáme súbor 1393 prípadov reprodukčných strát z regiónu Bratislavy, ktoré sme cytogeneticky vyšetrili v rokoch 1992-1997 na Ústave lekárskej biológie LF UK. Výskyt chromozómovej patológie úspešne kultivovaných vzoriek predstavoval 26,3 %. V mozaikovej forme sme zistili 24 prípadov, t.j. 9,6 % a v 5 prípadoch sme diagnostikovali lokálny placentárny mozaicizmus. Rozoberáme dôsledky mozaikovej patológie (*tab. 2, obr. 1, lit. 22*).

Kľúčové slová: spontánny abort, reprodukčné straty, chromozóm, mozaicizmus, lokálny placentárny mozaicizmus.

Summary

We present the set of 1393 reproductive wastage cases from the region Bratislava that were cytogenetically investigated during 1992-1997 at the Dpt. of medical biology Faculty of Medicine of Comenius University. The incidence of chromosomal pathology successfully cultivated specimens was 26.3 % . Mosaic form of chromosomal pathology was diagnosed in 24 cases i.e. 9.6 % and in 5 cases was diagnosed local placental mosaicism (CPM). Consequences of mosaic pathology are discussed (*Tab. 2, Fig. 1, Ref. 22*).

Key words: spontaneous abortion, reproductive wastage, chromosome, mosaicism, local placental mosaicism.

Prakt. Gynek., 5, 98, č. 2.

Úvod

Mozaicizmus možno stručne charakterizovať ako situáciu, keď v bunkách jedinca alebo len v jeho určitom tkanive sú prítomné dve alebo i viac bunkových línií, ktoré sa navzájom odlišujú svojou genetickou výbavou. Mutácie vznikajú v priebehu bunkového delenia v zárodočných bunkách, v somatických bunkách prenatálne, ale aj v rôznom štádiu postnatálneho života. Mozaika sa môže týkať len extra embryonálnych tkanív a nie plodu samotného.

Chromozómové aberácie predstavujú významnú kategóriu genetických ochorení, podieľajú sa na etiológii značnej časti reprodukčných strát, kongenitálnych malformácií a mentálnej retardácie, a tiež majú dôležitú úlohu v patogenéze malignity. Špecifické chromozómové abnormality sú zodpovedné za vyše 60 identifikovaných syndrómov. Incidencia chromozómového mozaicizmu v populácii v porovnaní s inými chromozómovými aberáciami je štatistickým problémom, ktorý závisí od percenta aberantných buniek a od počtu vyšetrených buniek.

Materiál a metodika

Cytogeneticky sme vyšetrovali spontánne aborty v I. a II. trimestri gravidity, mŕtvorodené plody a perinatálne úmrtia neznámej etiológie.

Pred cytogenetickým vyšetrením sme materiál hodnotili morfológicky podľa modifikovanej anatomickej klasifikácie (Fujikura a spol., 1966; Fantel a spol., 1988).

Chóriové klky sme spracovávali priamo, subkultivovali sme ich 24 hodín podľa metodiky Simoniho a spol. (1985) – karyotypizovali sme cytotrofoblast. Dlhodobou kultiváciou sme získali mitózy so syncytiotrofoblastu. Týmto spôsobom sme zvýšili úspešnosť karyotypizácie a mohli sme sledovať podiel lokálneho placentárneho mozaicizmu (CPM). Pri dlhodobej kultivácii sme použili tzv. „sendvičovú metódu“ (Bullerdiak a spol., 1979). Používali sme médium MEM-Alpha (Sigma) doplnené 20 % pupočníkového ľudského séra, resp. prelostrálneho hovinného séra (Biovet, Ivanovice na Hané) s clonou antibiotík. Časti embryonálnych tkanív a excízie zo svalového tkaniva plodov sme kultivovali v uzavretom systéme s použitím média MAC (Úsol, Praha) a 20 % prelostrálneho séra s antibiotickou clonou. Kultúry sme spracovávali modifikovanou metódou podľa Steeleho a Brega (1966). Preparáty sme farbili konvenčnými a identifikačnými farbami metodikami.

¹ I. gynekologicko-pôrodná klinika LFUK a ¹Ústav lekárskej biológie LFUK v Bratislave

Adresa: MUDr. K. Pašková, CSc., I. gynekologicko-pôrodná klinika LFUK, Zochova 7, 811 03 Bratislava, Slovensko

Za mozaicizmus sme považovali prípady, ktoré spĺňali kritériá podľa Ledbettera a spol. (1992) a Worton a Sterna (1984). Ide o prítomnosť rovnakej aneuploidie alebo štruktúrovej prestavby v dvoch alebo viacerých bunkách pri priamom spracovaní, najmenej jednej bunky v každej z dvoch nezávislých kultivačných nádob, najmenej jednej bunky pri priamom spracovaní a pri kultivácii.

Generalizovaný mozaicizmus je charakterizovaný prítomnosťou dvoch alebo viacerých karyotypicky rôznych bunkových línií u plodu aj placenty. Lokálny placentárny mozaicizmus (CPM), ktorý postihuje iba placentu, je výsledkom životaschopnej postzygotickéj mitotickej mutácie. Môže byť lokalizovaný v cytotrofoblaste (typ I), v chóriovej stróme (typ II) alebo v obidvoch bunkových líniách (typ III).

Typy lokálneho mozaicizmu sme určovali podľa Kalouseka (1988).

Výsledky

V rokoch 1992-1997 sme celkovo kultivovali 1393 vzoriek spontánnych abortov, z toho sme urobili 948 kultivácií (68,1 %). Z celkového počtu 249 chromozómových patológií sme zaznamenali patológiu v mozaikovej forme v 24 prípadoch (9,6 %). Pri hodnotení mozaikovej chromozómovej patológie sme z nášho súboru vylúčili prípady pseudomozaicizmu (obr. 1) (tab. 1).

V našom súbore sa vyskytli numerické chromozómové aberácie týkajúce sa autozómov i gonozómov, mozaiky štruktúrových aberácií, ako aj prítomnosť nadpočetnej alely v sade resp. sádach chromozómov.

V tabuľke 2 dokumentujeme tkanivovo špecifický mozaicizmus lokalizovaný v placente.

V prvom prípade CPM typu I. sme pri priamom spracovaní v cytotrofoblaste zistili normálny karyotyp a autozómovú trizómiu v extraembryonálnom mezenchýme. Amniová membrána tu nebola vytvorená, išlo o anembryomolu.

V druhom prípade CPM typu I. došlo k strate nadpočetnej sady chromozómov v cytotrofoblaste.

V treťom prípade CPM typ II. tetraploidný konceptus prežíval vďaka diploidnej línii v cytotrofoblaste. V štvrtom prípade CPM typ II. došlo v extraembryonálnom mezenchýme k zriadeniu patologickej trizomickej línie, predpokladáme trizomický konceptus.

V poslednom prípade sme diagnostikovali zriedkavý typ CPM III. V cytotrofoblaste aj v extraembryonálnom mezenchýme sa nachádzali obidve línie. Vzhľadom na počet metafáz nemôžeme určiť, či bola zygotá pôvodne diploidná alebo tetraploidná.

Všetky prípady CPM patria do I. trimestra gravidity.

Diskusia

Frekvenciu generalizovaného a lokálneho placentárneho mozaicizmu sledovali v súbore 2612 diagnostických odberov chóriových klkov v I. trimestri gravidity Wang a spol.

(1993). Generalizovaný mozaicizmus predstavoval 0,19 %, CPM 1,9 %. Typ I. CPM bol zastúpený 0,8 %, typ II. 0,9 % a typ III. 0,2 %. (Wang a spol., 1993).

Účinok postzygotickéj straty nadpočetného chromozómu závisí hlavne na bunkovej línii, v ktorej sa táto strata uskutočnila, ale je tiež ovplyvnený termínom korekcie a typom chromozómu. Ak je trizomický chromozóm stratený v progenitorských bunkách trofoblastu, narodí sa životaschopné trizomické dieťa (Kalousek a spol., 1989). Preto sa pri cytogenetickej

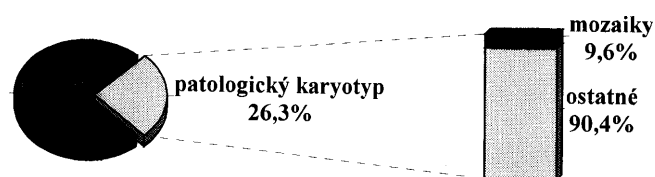
Tabuľka 1. Mozaicizmus v súbore reprodukčných strát

karyotyp	pomer línií	tkanivo	typ kult.
1. 46,XX/47,XX, +2	19:1	s	dd
2. 46,XX/47,XX, +5	1:2	ch,a	ps,dd
3. 46,XX/47,XX, +16	1:1	ch,a	ps,dd
4. 46,XY/47,XX, +18	4:1	ch,s	ps,dd
5. 46,XX/47,XX, +20	1:5	ch	ps,dd
6. 46,XX/47,XX,+G	2:1	ch,a	ps,dd
7. 46,XX/47,XX,+G	1:1	ch	ps,dd
8. 46,XY/47,XY,+21	1:1	ch,a,p	ps,dd
9. 46,XX/47,XX,+21	1:1	p,s	dd
10. 45,X/46,XX	2:3	ch,a	ps,dd
11. 45,X/46,XX	1:2	ch,a	ps,dd
12. 45,X-46,XX	1:1	ch,a	ps,dd
13. 45,X/46,XX	2:1	ch,a,p	dd
14. 45,X/46,XX	7:10	ch	ps
15. 45,X/46,XX	1:2	ch,a	ps,dd
16. 46,XY/47,XY,+12p	7:1	p,s	dd
17. 46,XX/47,XX,MAR (1q)	4:1	ch	ps,dd
18. 46,XY/46,XY del (15) (q22-ter)	9:1	p,s	ps,dd
19. 46,XX/69,XXX	1:1	ch	ps,dd
20. 46,XX/69,XXX	1:6	ch,a	ps,dd
21. 47,XY+C/69,XXY	1:3	ch	ps,dd
22. 69,XXY/70,XXY,+C	1:1	ch,a	dd
23. 46,XX/92,XXXX	1:1	ch,a	ps
24. 46,XX/92,XXXX	1:1	ch,a	ps,dd

Vysvetlivky: s – sval, dd – dlhodobá kultivácia, ch – choriové klky, ps – priame spracovanie, a – amnion, p – pupočník.

Tabuľka 2. Lokálny placentárny mozaicizmus (CPM)

Karyotyp	Priame sprac.	Dlhodobá kult.	Typ mozaicizmu
1. 46,XX/47,XX,+5	5/10	0/30	I.
2. 46,XX/69,XXX	20/5	0/4	I.
3. 46,XX/92,XXXX	0/4	3/2	II.
4. 46,XX/47,XX,+20	0/3	25/30	II.
5. 46,XX/92,XXXX	1/2	1/2	III.



Obrázok 1. Patologické karyotypy zistené v rokoch 1992–1997 (948 karyotypizovaných samovoľných potratov). Normálny karyotyp bol v 73,7 %.

diagnostike v I. trimestri gravidity odporúča analyzovať metafázy z cytotrofoblastu aj z extraembryonálneho mezenchýmu. Ak korekcia aneuploidie nastane v embryonálnej progenitorskej línii, vytvorí sa diploidný nemozaikový plod.

Pri korekcii aneuploidie dochádza k strate nadpočetného chromozómu, pri strate nadpočetného chromozómu zvyšne dva chromozómy u plodu môžu mať pôvod od obidvoch rodičov (biparentálna dizómia, alebo môžu byť iba od jedného rodiča (uniparentálna dizómia). Fenomén uniparentálnej dizómie (UPD) po prvý raz opísal Engel v roku 1980 a ten istý autor zhrnul aj dôsledky v klinickej praxi (Engel, 1980; Engel, 1995).

Očakáva sa, že jedna tretina korekcií aneuploidie bude fetálna UPD, ale toto číslo môže byť závislé od typu chromozómu (Lindor a spol., 1993). UPD môže byť výsledkom eliminácie štruktúrovo anomálneho chromozómu s následnou nondisjunkciou normálnych homológov (Tomkins a spol., 1994). V prípade korekcie monozómie postzygotickou duplikáciou jedného homólogu vznikne izodizómia (Petersen a spol., 1992). Účinok fetálnej UPD na prenatálny a postnatálny vývin u väčšiny gravidít s lokálnym placentárnym mozaicizmom nebol doposiaľ dobre definovaný. Okrem trizómie v mozaikovej forme sa tu uplatňuje aj účinok zmeneného genómového imprintingu a strata heterozygoty s expresiou recesívnej mutácie (Purvis-Smith a spol., 1992; Woodage a spol., 1994). Štúdie, ktoré sa zaoberajú kultiváciou chóriových klkov, uvádzajú výskyt arteficiálneho placentárneho mozaicizmu v 1 až 2 % kultivácií (Simoni a Fraccaro, 1992). Arteficiálny mozaicizmus sme sa v našom súbore snažili vylúčiť paralelnou kultiváciou chóriových klkov v niekoľkých kultivačných nádobách a kultivovaním viacerých tkanív. Johanson a spol. (1990) uvádzajú až 16,7 % podiel placentárneho mozaicizmu u abortov po prenatálnom odbere chóriových klkov v I. trimestri tehotnosti. Rovnaké percento uvádzajú Breed a spol. (1991). Podobne Kalousek a spol. (1992) zistili placentárny mozaicizmus v 11 prípadoch z 54 vyšetrených vzoriek spontánnych abortov v I. trimestri gravidity. Autori predpokladajú vyššiu frekvenciu mozaicizmu u spontánnych abortov ako bežne akceptovaných 5 až 10 %.

V našom súbore sme z piatich prípadov lokálneho placentárneho mozaicizmu diagnostikovali dva razy I. typ, dva razy II. typ a raz III. typ.

Záver

Príčinou reprodukčného neúspechu môže byť aj chromozómová aberácia lokalizovaná výlučne na placentárne tkanivo. Mozaicizmus a lokálny placentárny mozaicizmus má v mnohých prípadoch závažný vplyv na osud gravidity. Pre správnu interpretáciu je dôležité použitie molekulárných cytogenetických metód, ktoré umožňujú efektívne posúdiť zastúpenie jednotlivých línii v placente (Philip a spol., 1994). Použitie FISH analýzy pre odhad rozloženia jednotlivých línii v placente dopomôže k pochopeniu klinického významu gravidít s lokálnym placentárnym mozaicizmom. Sú potrebné štúdie placenty a fetálnej DNA u gravidít s normálnym aj retardovaným fetálnym rastom, aby bolo možné určiť úlohu lokálneho placentárneho mozaicizmu a fetálnej uniparentálnej dizómie pri intrauterinnom fetálnom raste a prežívaní.

Pri analýze nášho súboru sme sa snažili odhaliť príčinu reprodukčného neúspechu. Morfológickým, patologicko-anatomickým a cytogenetickým vyšetrením, ako aj rozborom anamnestických údajov partnerských párov sme chceli určiť priamy abortívny faktor a prognózu pre nasledujúcu graviditu*.

*Ďakujem pracovníkom Ústavu lekárskej biológie LFUK, pracovníkom spolupracujúcich ústavov LFUK a pracovníkom bratislavských gynekologicko-pôrodných kliník, ktorí sa na tejto problematike podieľali.

Literatúra

1. Breed A.S., Mantingh A., Vosters R., Beekknis J.R., Van Lith J.M., Anders G.J.: Follow up and pregnancy outcome after a diagnosis of mosaicism in CVS. *Prenat. Diagn.*, 1991;11, č. 8, s. 577–580.
2. Bullerdiek J., Bartnitzke S., Schloot W.: A rapid and simple sandwich-method used for chromosome analysis from small fetal and adult biopsy specimens. *Clin. Genet.*, 1979;16, s. 433–437.
3. Engel E.: A new genetic concept: Uniparental disomy and its potential effect, isodisomy. *Am. J. Med. Genet.*, 1980;6, s. 113–136.
4. Engel E.: La disomie uniparentale : Revue des causes et conséquences en clinique humaine. *Ann. Génét.*, 1995;38, č. 3, s. 113–136.
5. Fantel A.G., Shepard T.H., Vandheim-Roth C.: Embryonic and fetal phenotypes: Prevalence and other associated factors in a large study of spontaneous abortion. In: Porter I.M., Hook E.B.(Eds.): *Human embryonic and fetal death*. Acad. Press, New York, 1988:71.
6. Fujikura T., Froehlich L.A., Driscoll S.G.: A Simplified anatomic classification of abortions. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 1966;95, č. 7, s. 902–905.

7. Johnson A., Wapner R.J., Davis G.H., Jackson L.G.: Mosaicism in chorionic villus sampling: An association with poor perinatal outcome. *Obstet. Gyn.*, 1990:75, č. 4, s. 573–577.
8. Kalousek D.K.: The role of confined chromosomal mosaicism in placental function and human development. *Growth. Genet. Hormones*, 1988:4, s. 1–3.
9. Kalousek D.K., Barret I.J., McGillivray B.C.: Placental mosaicism and intrauterine survival of trisomies 13 and 18. *Am. J. Hum. Genet.*, 1989:44, s. 338–343.
10. Kalousek D.K., Barret I.J., Gartner A.B.: Spontaneous abortion and confined chromosomal mosaicism. *Hum. Genet.*, 1992:88, č. 6, s. 642–646.
11. Ledbetter D.H., Zachary J.M., Simson J.L., Golbus M.S., Pergament E., Jackson L., Mahoney M.J., Desnick R.J., Schulman J., Copleland K.L., Verlinsky Y., Yang-Feng T., Schonberg S.A., Babu A., Tharapel A., Dorfman A., Lubs H.A., Rhoads G.G., Fowler S.E., de la Cruz F.: Cytogenetic results from the U.S. collaborative study on CVS. *Prenat.Diagn.*, 1992:12, s. 317–345.
12. Lindor K.L., Jalal S.M., Thibodeau S.N., Boude D., Sauer K.L., Karnes P.S.: Mosaic trisomy 16 in a thriving infant: Maternal heterodisomy for chromosome 16. *Clin. Genet.*, 1993:44, s. 185–189.
13. Petersen M.B., Bartsch O., Adelsberger P.A., Mikkelsen M., Schwinger E., Antonarakis S.E.: Uniparental isodisomy due to duplication of chromosome 21 occurring in somatic cells monosomic for chromosome 21. *Genomics*, 1992:13, s. 269–274.
14. Philip J., Bryndorf T., Christensen B.: Prenatal aneuploidy detection in interphase cells by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Prenat.Diagn.*, 1994:14, s. 1203–1215.
15. Purvis-Smith S.G., Saville T., Manass S., Yip M.Y., Lam-Po-Tang P.R.L., Duffy B., Johnston H., Leigh D., McDonald B.: Uniparental disomy 15 resulting from „correction“ of an initial trisomy 15. *Am. J. Hum. Genet.*, 1992:5, s. 1348–1350.
16. Simoni G., Gimelli G., Xuoco C., Terzoli G.L., Rosella F., Romitti L., Dalpra L., Nocera G., Tibiletti M.G., Tenti P., Fraccaro M.: Discordance between prenatal cytogenetic diagnosis after chorionic villus sampling and chromosomal constitution of the fetus. In: Fraccaro M., Simoni G., Brambati B. (Eds): *First trimester fetal diagnosis*. Springer Verlag, Berlin, 1985, s. 137–143.
17. Simoni G., Fraccaro M.: Does confined placental mosaicism affect the fetus? *Hum. Reprod.*, 1992:7, č. 2, s. 139–140.
18. Steele M.W., Breg W.R.: Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. *Lancet*, 1966:I, s. 383–385.
19. Tomkins D.J., Waye J.S., Whelan D.T., Cox D.W.: Maternal uniparental disomy of chromosome 14 in a boy with (14q 14q) associated with a paternal t (13q 14q). *Am. J. Hum. Genet.*, 1994:55, s. A685.
20. Wang B.B., Rubin C.M., Williams J.: Mosaicism in chorionic villus sampling: An analysis of incidence and chromosomes involved in 2 612 consecutive cases. *Prenat. Diagn.*, 1993:13, č. 3, s. 179–190.
21. Woodage T., Prasad M., Dixon J.W., Selby R.E., Romain D.R., Columbano-Green L.M., Graham D., Rogan P.K., Seip J.R., Smith A., Trent R.J.: Bloom syndrome and maternal uniparental disomy for chromosome 15. *Am. J. Hum. Genet.*, 1994:55, s. 74–80.
22. Worton R.G., Stern R.: A canadian collaborative study of mosaicism in amniotic fluid cells cultures. *Prenat. Diagn.*, 1984:4, s. 131–144.

Do redakcie došlo 1.3.1998

O SMIECHU

*Smích je koření života, co k tomu dodat víc.
Smích je poezie, odlišuje lidi od zvířat.
Je zajímavé, že lidé, kteří něco uměli,
něco dokázali, něco znamenali, se většinou
uměli nádherně smát. Smích má tu moc, že*

*člověka dokáže vrátit do nenadsazených,
skutečných poloh.
Je přece nádherné, když si někdo umí
udělat legraci sám ze sebe!
Smích je pak kompasem, podle něhož se nedá zabloudit.*

Jiří Sovák