

UDK [575.116.4:616.8.056.7](497.16)

*Vojislav Novosel**

GENETIČKO ISPITIVANJE UČESTALOSTI HROMOZOMSKIH ABERACIJA U OSOBA SA KONGENITALNIM MALFORMACIJAMA U CRNOJ GORI

Apstrakt

U radu je prikazano genetičko ispitivanje učestalosti hromozomskih aberacija u grupi od 134 ispitanika sa kongenitalnim malformacijama na području Crne Gore. Analizom njihovih kariotipova otkriveno je 11 (8,2%) ispitanika sa numeričkim i strukturnim aberacijama na pojedinim hromozomima. Najučestalija hromozomska aberacija bila je trizomija 21. hromozoma (Down-ov sindrom), koja je otkrivena u 6 (4,4%) osoba. Četiri otkrivene aberacije su bile na polnim hromozomima, a samo jedna je bila strukturna hromozomska aberacija, odnosno parcijalna translokacija koja je nastala između 7. i 12. hromozoma.

Uvod

Kongenitalne malformacije sve češće se viđaju kod novorođenčadi u dječijim bolnicama, kao i kod izvjesnog broja osoba u specijalnim ustanovama za mentalno zaostalu djecu.

Umnožavanje patoloških gena ili pojava aberantnih hromozoma kod djece uslovljava njihovu smrtnost u prvim godinama života. Dakle, što je anomalija nekog organa ili pak sistema veća, inkopatibilnost tih osoba sa životom je veća. Prema tome, cilj ovih istraživanja jeste prvenstveno da se na vrijeme otkriju nosioci sa hromozomskim, odnosno genskim mutacijama, kako bi se na vrijeme otklonio rizik za rađanje potomstva sa genetičkim oštećenjima.

* Medicinski institut Univerziteta Crne Gore — Podgorica

Rezultati naših ispitivanja na ovoj problematici predstavljeni su u ovom radu.

Materijal i metode

Za analizu hromozoma poslužila je heparizirana periferna krv uzeta iz vene, a za analizu polnog hromatina uzete su ćelije bukalne sluzokože usta. Materijal je uzet od 134 osobe, od kojih je bilo 71 novorođenče uzeto iz porodilišta i dječje bolnice u Podgorici, a ostale 63 su bili odrasli uzeti sa područja cijele Crne Gore.

Krv je kultivisana u medijumu *Eagle* (iz Torlaka) uz prisustvo phytohemagglutinina po metodi Moorhed-a et al. (1960). Bojenje preparata je vršeno u rastvoru 5% Giemse. Tako dobijeni preparati su analizirani pod mikroskopom. Uspjeli hromozomski preparati su fotografisani i prikazani u radu. Čelije bukalne sluzokože, uzete iz usta, bojene su aceto-orseinom i analizirane pod mikroskopom.

Rezultati

Od 134 analizirane osobe, sa aberantnim kariotipom nađeno je 11 (8,2%) ispitanika. Dobijeni rezultati različitih tipova hromozomskih aberacija prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. — Klinička slika i otkrivene hromozomske aberacije

Broj ispitanih	Klinička slika	Kariotip	Sindromi
123	blaža ment. retard.	46, XY, ili 46, XX	—
6	multiple anomalije	47, XY, G ⁺ ; 47, XX, G ⁺	Daunov sindrom
2	mali rast, primarna amenoreja	45, XO	Turnerov sindrom
1	infertilitet, azospermija	47, XXY.	Klinefelterov sindrom
1	psihomotorna retardacija	47, XXX	Triplo-X sindrom
1	multiple anomalije	46, t/7; 12/.	Balans, translok.

Izračunata je procentualna zastupljenost otkrivenih hromozomskih aberacija u odnosu na uzorak 134 ispitanika, a rezultati su dati u Tabeli 2.

Tabela 2. — Procentualna zastupljenost pojedinih tipova otkrivenih hromozomskih aberacija — sindroma

Ukupan br. ispit.	Normalan kariotip	Aberantni kariotip	Trizomija 21.	Monozomija XO	Polizomija XXY	Triplo XXX	Balans. translok.
134	123	11	6	6	1	1	1
100%	91,8%	8,2%	4,4%	1,5%	0,7%	0,7%	0,7%

Ovi nalazi odnose se uglavnom na osobe sa teškim multipnim kongenitalnim malformacijama.

Kod 6 (4,4%) klinička slika je ukazivala na poznate osobine Down-ovog sindroma, od kojih su bile najčešće: mana srca, psihomotorna retardacija, kose oči, spuštene uške, strabizam i stigmatiziranost. Kariotip ovih osoba prikazan je na slikama 1 i 2.

Nađene aberacije na polnim hromozomima bile su zastupljene u 4 (2,98%) ispitanika. Monozomija XO ili Turnerov sindrom u svom kariotipu sadrži jedan manje polni hromozom, a to je prethodno potvrdila i analiza polnog hromatina, gdje nije nađeno ni jedno Barr-ovo tjelašće u ćelijama buakne sluzokože. Kariotip ovih ispitanika prikazan je na slici 3, a ćelije bez polnog hromaxina na slici 4.

Klinička slika u osoba sa Turnerovim sindromom odlikuje se malim rastom, kožnim naborom sa obje strane vrata (pterigium coli), primarna amenoreja i dizgeneza gonada. Psihomotorni razvoj je kao i kod normalnih osoba.

Kod muškarca, starog 18 godina, otkriven je kariotip sa 47, XXY (slika 5). Analizom ćelija bukalne sluzokože kod ovog mladića nađena su Barr-ova tjelašća, kojih nema kod normalnih muškaraca (slika 6). Klinička slika ove hromozomske aberacije praćena je visokim rastom do 185 cm, ginekomastiom, motornom retardacijm, slabo razvijenim sjemenicima i azospermijom.

Triplo-X sindrom otkriven je kod djevojčice stare 14 godina sa psihomotornom retardacijom (IQ = 65) i kariotipom koji sadrži tri X hromozoma (sl. 7) i dva Barr-ova tjelašća u ćelijama bukalne sluzokože (sl. 8), što ukazuje na prisustvo jednog više x-hromozoma u kariotipu, odnosno jednog više Barr-ovog tjelašća koga nema u normalnih žena.

Osim navedenih hromozomskih aberacija koje smo opisali na autozomima i polnim hromozomima, otkrivena je jedna strukturna hromozomska aberacija kod muškog novorođenčeta. Ova aberacija je nastala usljed prekida na kraćem kraku sedmog i dvanaestog hromozoma, zbog čega je došlo do fuzije prekinutih djelova i na-

stanka parcijalne hromozomske aberacije (sl. 9). U ovom slučaju genetski materijal je u cjelini sačuvan, ali je došlo do poremećaja u rasporedu gena na tako translociranom hromozomu. Ova aberacija je praćena kliničkom slikom koja sadrži niz multipnih anomalija i sa slabom vitalnošću za preživljavanje.

Diskusija

Kongenitalne malformacije po izraženosti anomalija su veoma različite, i većina njih je udružena sa hromozomskim aberacijama. Zato se moglo očekivati da, u ispitivanoj grupi ovih osoba, bude otkriveno više kariotipova sa hromozomskim aberacijama. Međutim, i pored tih očekivanja, u grupi od 134 citogenetički analiziranih osoba otkriveno je samo 11 (8,2%) kariotipova sa aberacijama na hromozomima.

U šest ispitanika klinička slika je izrazito ukazivala na pojavu Down-ovog sindroma, a to je potvrdila analiza njihovih kariotipova u kojima je otkriven jedan više hromozom, i to u 21. hromozomskom paru.

Faktori koji uslovljavaju pojavu Daunovog sindroma (prosta trizomija 21.) u prvom redu su godine starosti roditelja, odnosno starosne godine majke, u vrijeme rađanja djeteta. Naime, vrijeme započinjanja ovogeneze, ukoliko se javlja u kasnoj fertilnoj dobi žene, sazrijevanje jajne ćelije doživljava duži period »mirovanja«. Time je uvećan rizik da ćelija bude izložena štetnom uticaju koji može da poremeti mehanizme ćelijske diobe, a to uslovljava nerazdvajanje hromozoma. Mehanizmi koji su uključeni u nerazdvajanje hromozoma prilikom sazrijevanja jajne ćelije bili bi: degeneracija vlakana diobenog vretena ćelije, perzistiranje nukleusa, smanjena učestalost hijazmi između hromatida, odložena fertilizacija, greške prilikom sparivanja homolognih hromozoma i drugo.

Niz autora (1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 13) ističe da su starosne godine roditelja, u prvom redu majke, od velike važnosti za dobijanje zdravog potomstva. Ovo potvrđuju i anamnestički podaci koje smo uzeli od roditelja djece sa Daunovim sindromom.

Osim osoba sa Daunovim sindromom (prosta trizomija 21.), mogu se javiti i osobe koje u svom kariotipu imaju trizomiju 21. sa translokacijom tipa: $t(14;21)$ ili $t(21;21)$. To su tzv. balansirane translokacije koje najčešće mogu biti prenesene od jednog roditelja koji ih posjeduje. Balansirane translokacije predstavljaju kod nosioca kategoriju visokog rizika za potomstvo. Zato ove osobe treba na vrijeme upozoriti da su visoko rizične za svoje potomstvo, i uputiti ih radi analize kariotipa ploda na prenatalnu dijagnozu putem primjene rane amniocenteze.

Osobe sa aberacijama na polnim hromozomima u čijem kariotipu je otkriven jedan manje, odnosno jedan više X hromozom, po učestalosti zauzimaju drugo mjesto sa 2,9% u ispitivanom uzorku

kongenitalno malformisanih osoba na području Crne Gore. I ove hromozomske aberacija nastaju usljed nerazdvajanja hromozoma u mejotičkoj diobi pri gametogenezi, ili u zigotu pri mitotičkoj diobi ćelija. Može se reći da su slični faktori rizika koji utču na nastanak ovih aberacija kao što su i kod Daunovog sindroma. Ovo mišljenje u svojim radovima potvrđuje niz autora (2, 3, 10, 11, 12).

Postoje mjesta na hromozomima koja su veoma osjetljiva na djelovanje spoljnih ili unutrašnjih faktora rizika, što dovodi do prekida na hromozomima, a to ujedno uslovljava dezintegraciju gena, odnosno dovodi do takozvane genske mutacije. Jedna takva aberacija na hromozomima otkrivena je kod novorođenčeta muškog pola. Ovdje se radi o tzv. strukturnoj aberaciji nastaloj između 7. i 12. hromozoma. Naime, ovdje je došlo do translokacije kraćeg kraća 7-og hromozoma na kraći krak 12. hromozoma, iz čega je nastala tzv. parcijalna hromozomska translokacija.

Pouzdanе podatke za nastanak ovog tipa hromozomske aberacije nemamo. Zato se može konstatovati da je ovaj tip hromozomske aberacije nastao »de novo«, jer su roditelji djeteta imali normalan kariotip.

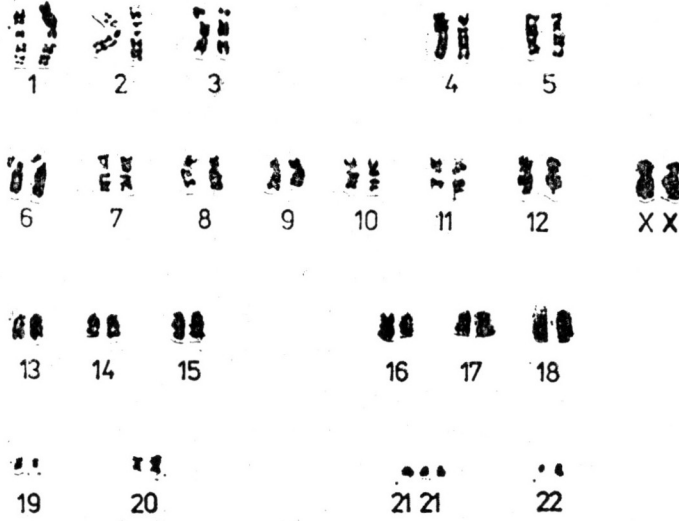
Etiologija kliničke slike osoba kod kojih je kariotip bio u granicama normalnog za sada je ostala nerazjašnjena.

Zaključak

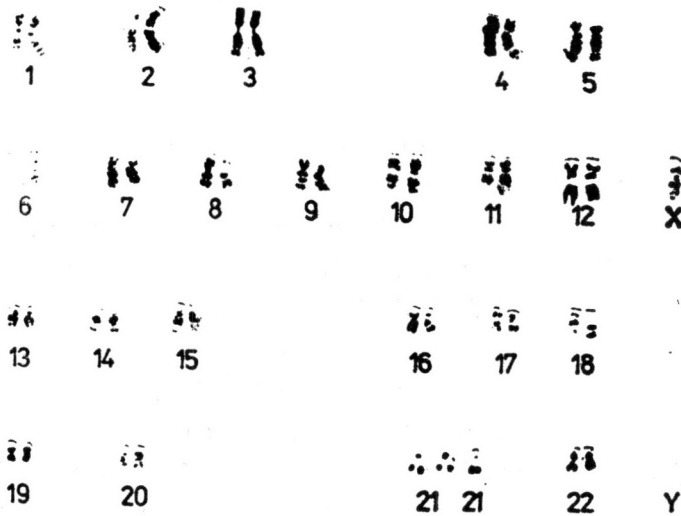
Etiologija kongenitalnih malformacija u većine naših ispitanika sa područja Crne Gore nije razjašnjena, i pored citogenetičke analize njihovih kariotipova. Od ukupnog broja citogenetički analiziranih osoba (134), sa hromozomskim aberacijama je otkriveno svega 11 (8,2%), dok je kod ostale 123 kariotip bio u granicama normalnog.

U ispitivanom uzorku otkrivene su i osobe sa visokim rizikom na hromozomske aberacije, pa je iz tih razloga preporučeno genetičko savjetovanje u smislu upućivanja istih na prenatalnu dijagnostiku kariotipa ploda uz primjenu rane amniocenteze kao metode za otkrivanje hromozomskih aberacija.

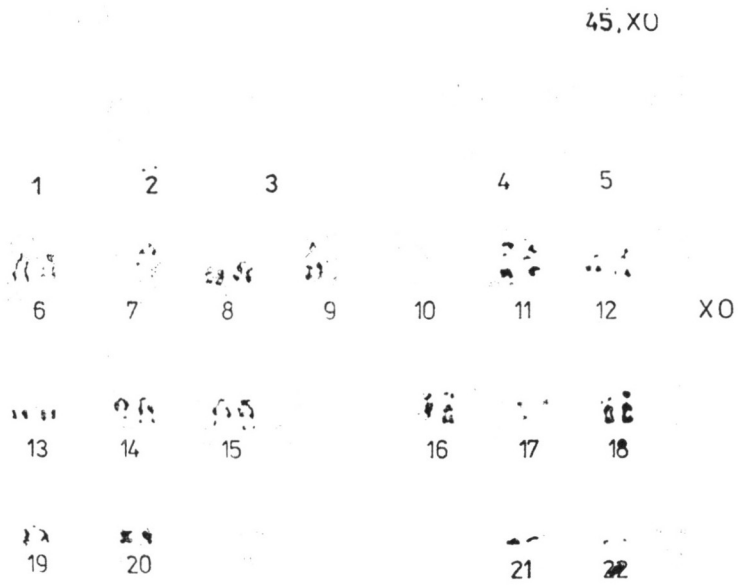
47, XX, G+

Sl. 1. — Kariotip muškarca sa 47, XY, G⁺

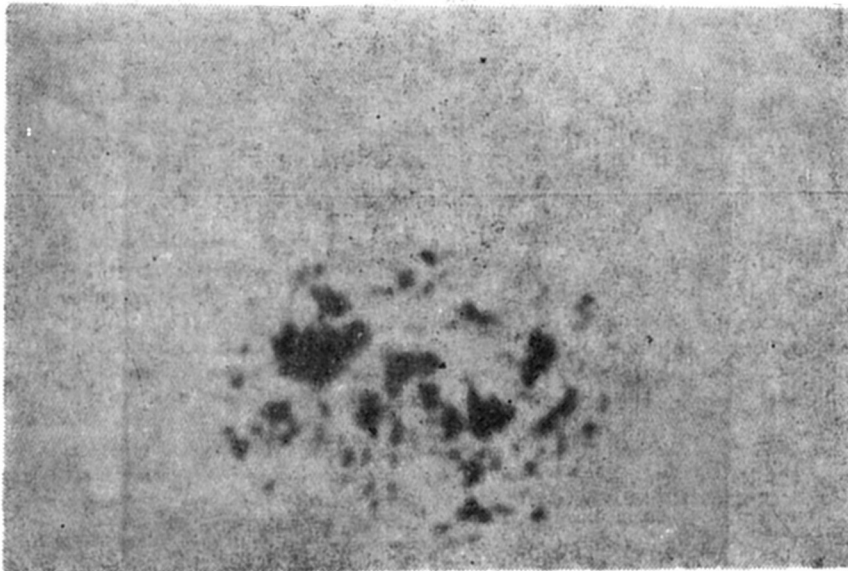
47, XY, G+



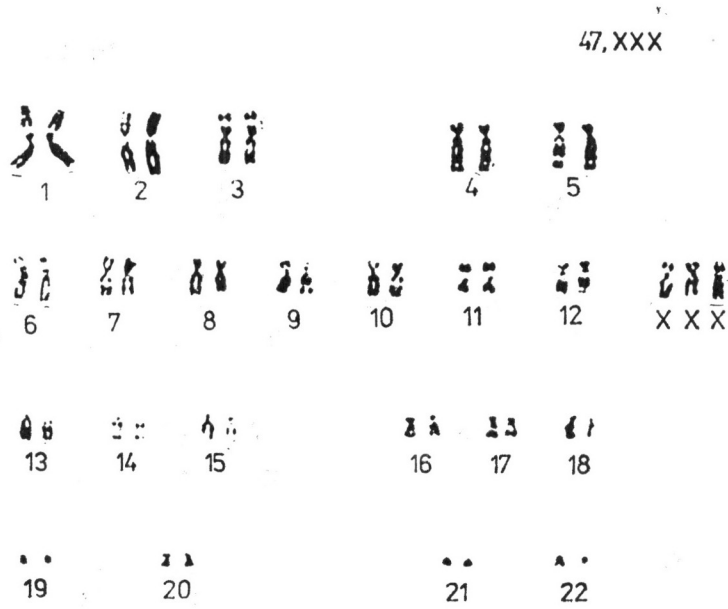
Sl. 2. — Kariotip žene sa 47, XX, GY



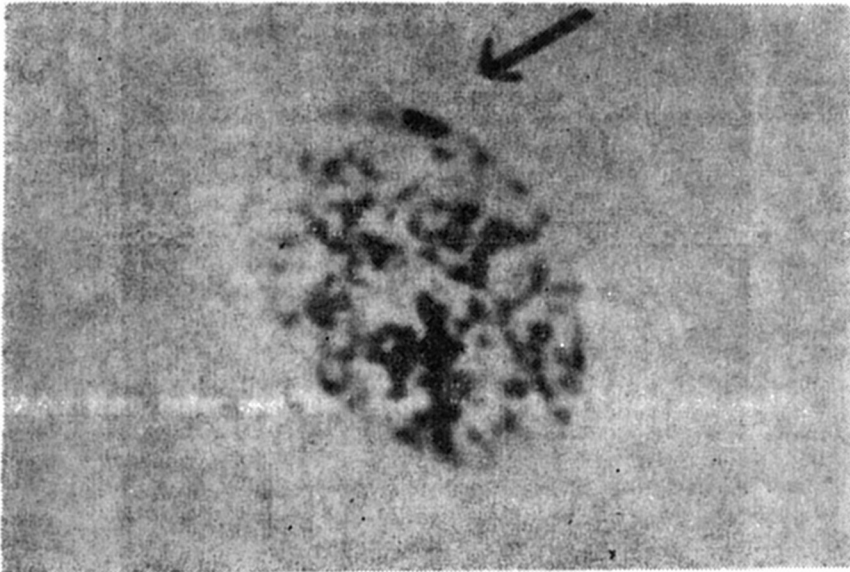
Sl. 3. — Kariotip djevojke sa 45, XO



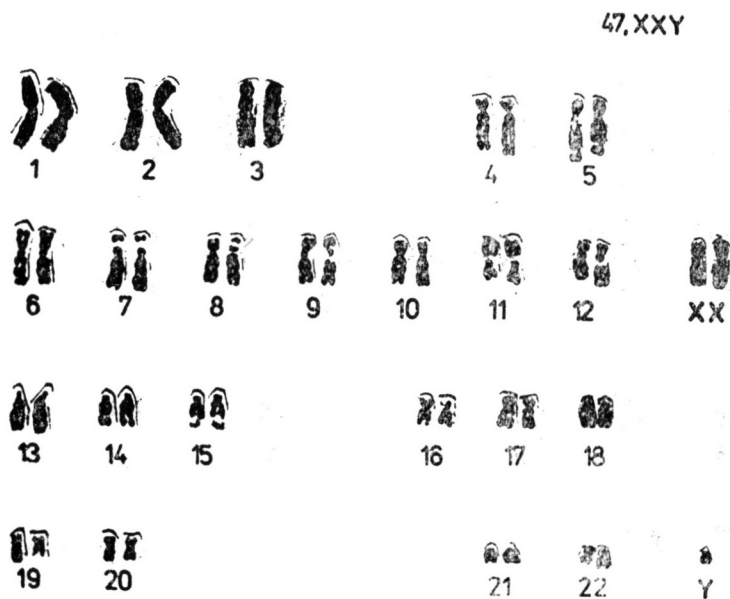
Sl. 4. — Čelije búkalne sluzokože bez polnog hromatina



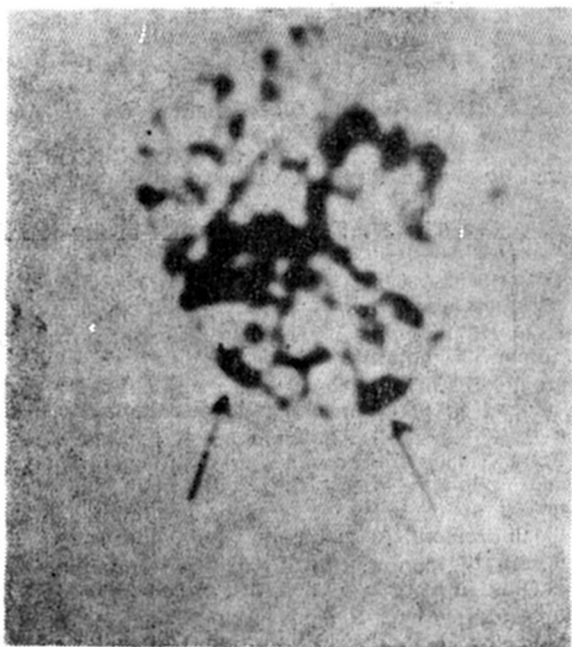
Sl. 5. — Kariotip muškarca sa 47, XXY



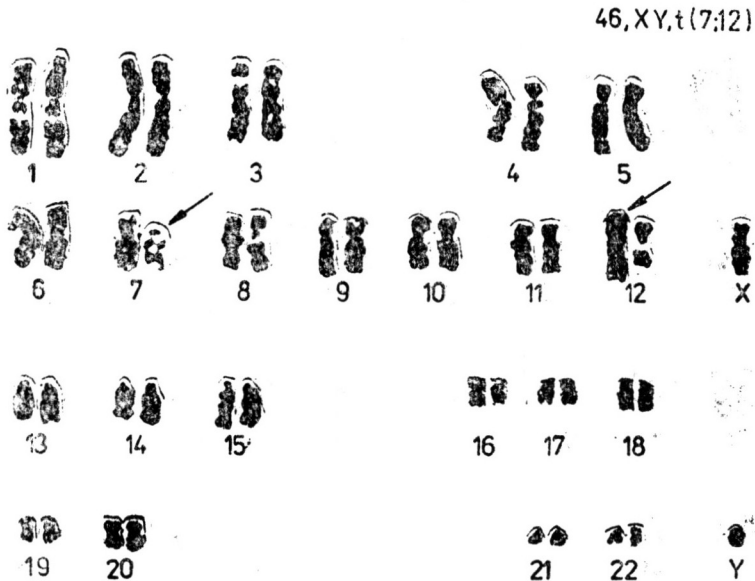
Sl. 6. — Čelije bukalne sluzokože sa polnim hromatinom (Barro-ovo tjelaš.)



Sl. 7. — Kariotip djevojčice sa 47, XXX



Sl. 8. — Celije bukalne sluzokože sa dva polna hromatina



Sl. 9. — Kariotip muškog novorođenčeta sa 46, XY, t/7; 12/

LITERATURA

1. Ford, E. (1973): *Human Chromosomes*, Academic Press, London New York, 174—240.
2. Hamerton, Lj. (1971): *Human Cytogenetics*, Vol. II, Academic Press, New York and London, 1—220 p.
3. Johnston, W. (1961): *The triple X- syndrome*, Clinical pathological and chromosomal studies in three mentally retarded cases, *Brit. Med. J.*, 2: 1047 p.
4. Lejeune J. (1964): *The 21. Trisomy*. *Progres in Medical Genet.* 3: 144—177. New York and London.
5. Marković, V. (1972): *Aberacije hromozoma u roditelja djece sa Down-ovim sindromom* (doktorska teza), Beograd.
6. Mikkelsen, M. (1971): *Down's syndrome*, Current stage of cytogenetic research, *Human. Genet.* 12: 1—28.
7. Morić-Petrović, S. (1975): *Hromozomska anomalija čovjeka (Down-ov sindrom)*. *Zavod za mentalno zdravlje*, u rukopisu.
8. Moorherd, P. S., Nowell, P. C., Mellmon, V. J., Battips, D. M. and Hungerford, D. A. (1960): *Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood*. *Exp. Cell. Res.* 20: 613 p.
9. Novosel, V. (1975): *Citogenetička analiza hromozoma u dva slučaja sa Down-ovim sindromom*, (u rukopisu). *Medicinski zapisi* 29: 135—139.
10. Novosel, V. (1977): *Monozomija XO ili Turnerov sindrom u trogodišnje djevojčice*. *Glas. Rep. zavoda za zaštitu prirode, Titograd*, 10:113—119.
11. Novosel, V. (1979): *Triplo-X sindrom u djevojčice sa hromozomskom konstitucijom 47, XXX i kariotip majke sa 46, XX, D_{SS}*. *Glas. Rep. zavoda za zaštitu prirode, Titograd*, 12:181—188.

12. Novosel, V. i Vuković, B. (1984): *Klinefelterov sindrom*. Zbornik radova XIV Sabora ljekara Jugozapadne Srbije i Sjeverne Crne Gore, Nova Varoš,, str. 161—162.
13. Shadow, W. (1962): *Familijal mongolism*. *Cytogenetics*, 1: 141—179.

Vojislav Novosel

GENETICAL EXAMINATION OF FREQUENCY OF CHROMOSOMAL
ABERRATIONS OF PERSONS WITH CONGENITAL MALFORMATIONS
IN MONTENEGRO

Summary

The cytogenetical analysis of karyotyps showed that among population of 134 persons with congenital malformations, 11 or 8,2% had some damage one of the chromosomes in their karyotyp. The most usual chromosomal malformation was trisomy 21 (Down syndrom), which was equally presented in both sexes. On the second place was aberration on the sex chromosomes.

It is very important to emphasize that we found very rare chromosomal aberration, so-called partial translocation between 7 and 12 chromosomes in karyotyp of one person. This case is very important in mapping of human chromosomes.

The phenotypic characteristics and clinical diagnosis in these cases was different what was the problem in their connecting with chromosomal aberrations that we found.

We found 11 persons with chromosomal aberrations which were in close ties with heavy mental retardation. Also we found 123 persons with normal karyotyp and their phenotypic characteristics were with less mental retardation.

