

DE NOVO BALANSIRANA RECIPROČNA TRANSLOKACIJA: PRIKAZ DVA SLUČAJA

DE NOVO BALANCED RECIPROCAL TRANSLOCATION: TWO CASES

Jadranka Vraneković¹, Bojana Brajenović-Milić¹, Zlata Modrušan-Mozetić², Miljenko Kapović¹

SAŽETAK

U radu su prikazana dva slučaja s *de novo* balansiranom recipročnom translokacijom, koja su detektirana u sklopu prenatalne dijagnostike. U takvim slučajevima nemoguće je sa sigurnošću prognozirati fenotip ploda/djeteta zbog saznanja o mogućnostima njegove promjene u 6% slučajeva. Kariotip je određen GTG-metodom oprugavanja kromosoma te fluorescentnom *in situ* hibridizacijom sa sondama YAC 758H11 (20q12), PCP 433 (4q11->21) i YAC 758h10 (1p31.1), PCP 122 (2pter->2q21). U oba slučaja trudnoća i porodaj protekli su bez komplikacija i rođena su zdrava djeca. Kontrolnim pedijatarskim pregledom godinu dana nakon porođaja utvrđen je uredan psihomotorni razvoj djece.

KLJUČNE RIJEČI: de novo balansirane recipročne translokacije, FISH, GTG

ABSTRACT

In this study we describe two cases with *de novo* balanced reciprocal translocation detected by prenatal diagnosis. Genetic counselling can be problematic in such cases because the risk of phenotypic abnormality was 6%. Karyotyping was performed using the GTG-banding method and fluorescence *in situ* hybridisation with probes YAC 758H11 (20q12), PCP 433 (4q11->21) and YAC 758h10 (1p31.1), PCP 122 (2pter->2q21). In both cases, the pregnancies as well as the deliveries were carried out with no complication and both babies were born healthy. After a year they showed normal physical and mental development.

KEY WORDS: de novo balanced reciprocal translocation, FISH, GTG

UVOD

Recipročne translokacije su strukturne interkromosomske promjene koje nastaju kao posljedica prebačaja kromosomskih segmenata između heterolognih kromosoma. Ako nema promjene u ukupnoj količini nasljednog materijala unatoč prespajanju dijelova kromosoma, promjena se smatra balansiranom, a osobe koje nose takvu promjenu zovemo mirnim nosiocima. Učestalost mirnih nosioca u općoj populaciji iznosi 1:600.(8) Iako se radi o osobama urednog fenotipa,

problemi se javljaju vezano uz njihovu reprodukciju jer se tijekom gametogeneze mogu, uz balansirane, stvarati i nebalansirane gemete, što može dovesti do promjene fenotipa u njihovih potomaka. U većini slučajeva recipročne se translokacije nasljeđuju od jednog roditelja (obiteljski tip), ali mogu nastati i kao posljedica svježih mutacija odnosno *de novo*. *De novo* recipročne translokacije nastaju zbog greške tijekom mejoze u roditelja (8, 140), a incidencija u novorođenčadi je 1/2000 (Wassman, 1989.). Brojne studije upućuju na mogućnost promjene fenotipa u takvim slučajevima (Warburton, 1991.). Upravo to čini genetičko savjetovanje u okviru prenatalne dijagnostike mnogo težim nego u slučajevima kada se radi o naslijeđenoj promjeni. Stoga je iznimno važno pratiti psihofizički razvoj takvih osoba, i to čak i duže od dvije godine. U ovom radu bit će prikazana dva slučaja s *de novo* recipročnom translokacijom, koja su prenatalno detektirana, a postnatalno praćena i duže od dvije godine starosti djeteta.

Ustanova: ¹Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, ²Odsjek za djecu s neurorazvojnim smetnjama, Klinika za pedijatriju, KBC Rijeka

Prispjelo: 12. 5. 2004.

Prihvaćeno: 27. 5. 2004.

Adresa za dopisivanje: Mr. sc. Jadranka Vraneković, prof. biol./kem., Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka. Tel. 051651131. e-mail: jadranka.paravic@medri.hr

PRIKAZ SLUČAJEVA

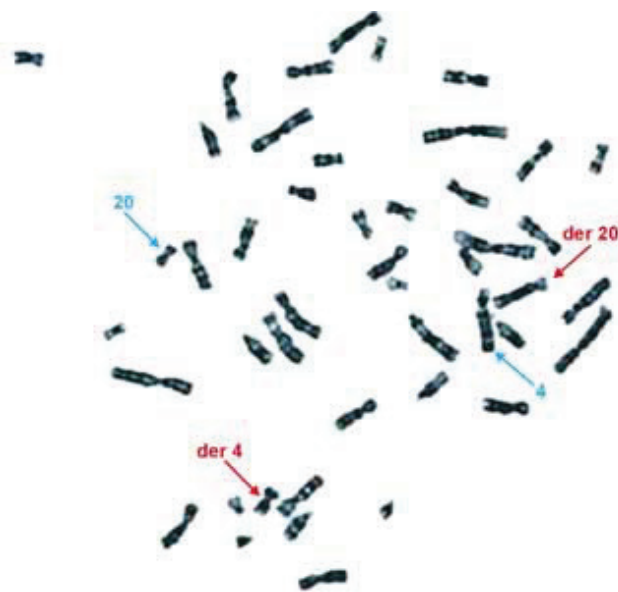
Slučaj 1.

Trudnica, 28 godina, upućena je u 17. tjednu trudnoće na amniocentezu zbog pozitivnog nalaza testa probira za Downov sindrom (DS rizik 1/87). Analizom stanica plodove vode GTG-metodom oprugavanja kromosoma, ustanovljena je recipročna translokacija između 4. i 20. kromosoma (4q;20p) pa je kariotip ploda opisan kao: 46,XX,t(4;20)(q21;p11) (slika 1.). Kariotipizacijom limfocita periferne krvi utvrđen je uredan kariotip oba roditelja, što je upućivalo na to da se radilo o *de novo* promjeni u ploda. Ultrazvučnom dijagnostikom nisu utvrđene nikakve anomalije ploda pa je nakon genetičkog informiranja trudnoća nastavljena. Sam je porođaj protekao bez komplikacija na termin. Rođeno je zdravo žensko dijete (porođajna težina i dužina 3740 g/49 cm, opseg glave 33,5 cm i APGAR 9/10). Dva dana nakon porođaja napravljena je kariotipizacija limfocita periferne krvi djeteta. Uz klasičnu citogenetiku, učinjena je i molekularno citogenetička analiza kromosoma metodom fluorescentne *in situ* hibridizacije sa sondama PCP 433 (4 q11->21) i YAC 758H11 (20 p11.2). Time je potvrđen nalaz, a točke loma preciznije su određene (slika 2.).

Godinu dana poslije, kontrolnim pedijarskim pregledom ponovno je utvrđen uredan psihofizički rast i razvoj djevojčice. U petoj godini djevojčica je upućena na razgovor k specijalisti kliničke psihologije zbog "živahna" ponašanja. Nalaz specijaliste pokazuje da se radi o djetetu s mentalnom sposobnošću na razini boljeg prosjeka s urednim psihomotornim razvojem.

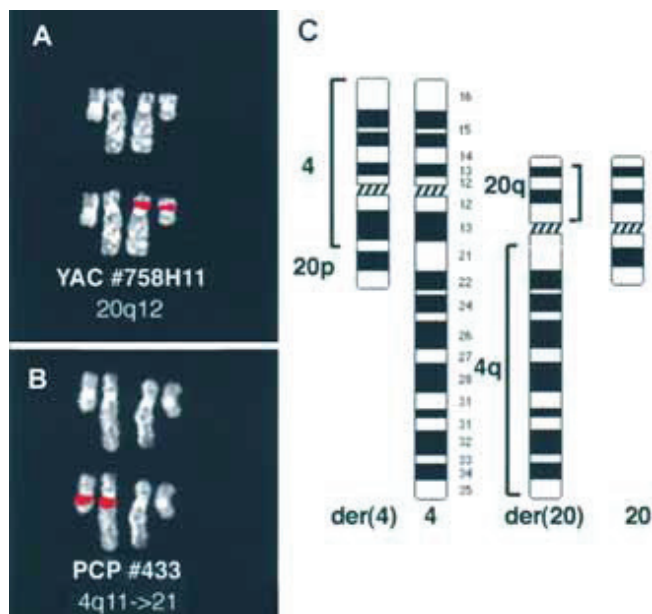
Slučaj 2.

Trudnica u 18. tjednu trudnoće upućena je na amniocentezu zbog godina starosti (40 godina). Analizom stanica plodove vode GTG-metodom oprugavanja kromosoma utvrđena je recipročna translokacija kromosoma (1p; 2q) pa je kariotip ploda opisan kao: 46,XY,t(1;2)(p31;q21) (slika 3.). Kariotipizacijom limfocita periferne krvi roditelja utvrđen je uredan kariotip, što je upućivalo na pojavu svježe mutacije u njihova djeteta. I u ovom slučaju ultrazvučnom dijagnostikom nisu utvrđene anomalije ploda pa je trudnoća nastavljena. Porođaj je protekao bez komplikacija. Rođeno je zdravo muško dijete (porođajna težina i dužina 3080 g/49 cm, opseg glave 32,5 cm i APGAR 8/10). U četvrtom mjesecu dječaku je napravljena kariotipizacija limfocita periferne krvi, kojom je potvrđen prenatalno dijagnosticirani kariotip. Isto tako, napravljena je i molekularno citogenetička analiza kromosoma metodom fluorescentne *in situ* hibridizacije sondama PCP 122 (2pter->2q21) i YAC 758H10 (1p31.1) (slika 4.).



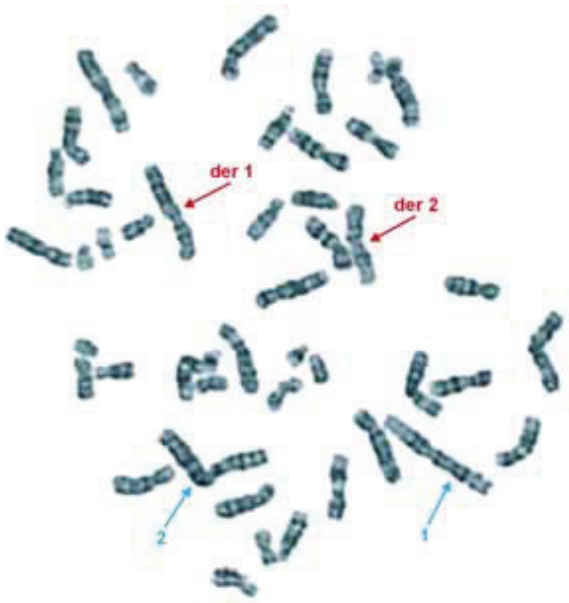
Slika 1. Metafazni kromosomi (GTG-pruge). Plavim strelicama označeni su normalni kromosomi 4 i 20, a crvenima derivirani kromosomi 4 i 20.

Figure 1 *Metaphase chromosomes (GTG-banding)*. Normal chromosomes 4 and 20 are indicated with blue arrows, while derived chromosomes 4 and 20 with red ones.



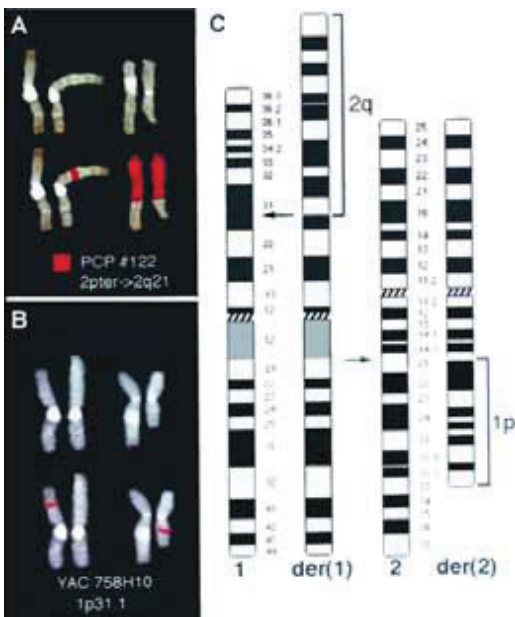
Slika 2. FISH na metafaznim kromosomima. Kariotip: 46,XX,isht(4;20)(4pter->4q21.2::20p11.2;20qter->20p11.2::4q21.24->4qter)*de novo*. (A) sonda YAC 758H11 (20q12), (B) sonda PCP 433 (4q11->21) (C) Idiogram normalnih i deriviranih kromosoma 4 i 20 (GTG-pruge).

Figure 2 *FISH on metaphase chromosomes*. Karyotype: 46,XX,isht(4;20)(4pter->4q21.2::20p11.2;20qter->20p11.2::4q21.24->4qter)*de novo*. (A) probe YAC 758H11 (20q12), (B) probe PCP 433 (4q11->21) (C) Idiogram of normal and derived chromosomes 4 and 20 (GTG-banding).



Slika 3. Metafazni kromosomi (GTG-pruge). Plavim strelicama označeni su normalni kromosomi 1 i 2, a crvenim derivirani kromosomi 1 i 2.

Figure 3 *Metaphase chromosomes (GTG-banding)*. Normal chromosomes 1 and 2 are indicated with blue arrows, while derived chromosomes 1 and 2 with red ones.



Slika 4. FISH na metafaznim kromosomima. Kariotip: 46,XY.isht(1;2)(1qter->1p31.1::2q21.2->2qter;2pter->2q21.1::1p31.2->1pter)*de novo* (A) sonda PCP 122 (2pter->2q21), (B) sonda YAC 758h10 (1p31.1) (C) Idiogram normalnih i deriviranih kromosoma 1 i 2 (GTG-pruge).

Figure 4 *FISH on metaphase chromosomes* Karyotype: 46,XY.isht(1;2)(1qter->1p31.1::2q21.2->2qter;2pter->2q21.1::1p31.2->1pter)*de novo* (A) probe PCP 122 (2pter->2q21), (B) probe YAC 758h10 (1p31.1) (C) Idiogram of normal and derived chromosomes 1 and 2 (GTG-banding).

Kontrolnim pedijatarskim pregledom, godinu dana poslije, potvrđen je normalan psihofizički rast i razvoj djeteta.

RASPRAVA

U radu smo obradili dva slučaja kod kojih je analizom stanica plodove vode utvrđena *de novo* balansirana recipročna translokacija. U takvim je slučajevima vrlo teško prognozirati daljnji psihofizički razvoj ploda/djeteta jer prema studiji koju je 1991. godine provela Dorothy Warburton, *de novo* balansirane recipročne translokacije mogu biti povezane s fenotipskim promjenama u oko 6% slučajeva.⁴ Da se balansirane recipročne translokacije mogu povezati s mentalnom retardacijom i kogenitalnim anomalijama, zna se od 1972. godine.⁵ Otada do danas opisani su brojni slučajevi koji se danas opisuju kao prividno balansirane recipročne translokacije. Promjena fenotipa u osoba s prividno balansiranom recipročnom translokacijom objašnjava se oštećenjem gena do kojega dolazi zbog izmjene kromosomskog materijala, što dovodi do gubitka njegove funkcije.⁶ Precizno utvrđivanje točaka lomova može uvelike pomoći u identifikaciji lokusa gena. Izolacijom DNA-molekule u području točaka loma, mogu se detektirati eventualne mutacije toga gena i povezati s određenim fenotipom karakterističnim za neku već poznatu ili novootkrivenu bolest. Uz to, postoje i neka druga objašnjenja kojima se nastoji razjasniti promjena fenotipa u nosioca prividno balansiranih recipročnih translokacija. Jedno od tih objašnjenja kaže da je strukturna promjena u stvarnosti nebalansirana zbog mogućnosti male delecije ili duplikacije kromosomskog materijala oko samog mjesta loma, a koja je ispod razine citogenetičke detekcije klasičnim metodama oprugavanja kromosoma.^{7,8} Sljedeće objašnjenje govori o tome da je genski materijal balansiran, ali promjena njegove pozicije i novo kromosomsko okružje može biti uzrokom abnormalne funkcije gena, što je čest slučaj u tumorskim stanicama.⁹ Isto tako, abnormalan fenotip u nosioca prividno balansirane recipročne translokacije, može se povezati s uniparentnom disomijom (UPD)⁷. Pojam uniparentna disomija opisuje prisutnost homolognog para kromosoma ili samo jednog njegova dijela, koji su istoga roditeljskog podrijetla u inače euploidnoj stanici.^{10,11} Dokazano je da UPD različitih kromosoma ima i različit utjecaj na fenotip, što ovisi o roditeljskom podrijetlu kromosoma. Fenomen koji opisuje različitu ekspresiju gena, odnosno kromosoma s obzirom na njegovo roditeljsko podrijetlo, naziva se *genomic imprinting*.¹¹

Razvojem molekularne citogenetike i općenito tehnika molekularne biologije, analiza točaka loma u svim strukturnim promjenama, pa tako i u ovima, postala je neizostavan dio pretrage, čime se omogućuje mapiranje

gena te utvrđivanje povezanosti kariotipa/genotipa i fenotipa. Za tu se svrhu najčešće upotrebljava fluorescentna *in situ* hibridizacija. Sonde za hibridizaciju odabiru se na temelju kariotipa utvrđenog nekom od klasičnih metoda oprugavanja kromosoma. I u našem je radu upotrijebljena fluorescentna *in situ* hibridizacija za precizno utvrđivanje točaka loma na deriviranim kromosomima koji su posljedica recipročne translokacije. Temeljem dobivenih rezultata hibridizacije, a prema OMIM (engl. – Online Mendelian Inheritance in Man)¹² bazi podataka, ustanovili smo da utvrđene točke loma nisu povezane s lokusima funkcionalnih gena, čime se može objasniti uredan fenotip ispitanika.

U slučajevima prenatalno utvrđenih kromosomskih promjena nastalim kao posljedica svježije mutacije, za razjašnjenje odnosa genotip – fenotip veliko značenje ima i ultrazvučna dijagnostika.¹³ Park sa suradnicima upućuje na potrebu detaljnijega ultrazvučnog pregleda fetusa, koji bi uključivao ekokardiografiju radi što bolje prognoze fenotipa ploda/djeteta. Studije pokazuju da su osobe s *de novo* balansiranom recipročnom translokacijom, u kojih nije bilo ultrazvučno utvrđenih anomalija, rođene bez zdravstvenih problema.¹³⁻¹⁵ Ni u naših ispitanika prenatalnom ultrazvučnom dijagnostikom nisu ustanovljene nikakve anomalije. Oba pacijenta rođena su bez zdravstvenih smetnji, što je i potvrđeno daljnjim pedijaterskim pregledima.

Kao što smo spomenuli u uvodu, mirni nosioci recipročne translokacije mogu imati različite probleme u reprodukciji, a jedan od takvih problema mogu biti i spontani pobačaji. Do spontanih pobačaja dolazi zbog stvaranja nebalansiranih gameta tijekom gametogeneze. Upravo zbog tih problema mnogi od njih se u novije vrijeme odlučuju na preimplantacijsku genetičku dijagnostiku (engl. – preimplantation genetic diagnosis) metodom fluorescentne *in situ* hibridizacije koja im pruža veću sigurnost da će njihovo dijete biti zdravo.¹⁶

ZAKLJUČAK

U slučajevima *de novo* balansiranih recipročnih translokacija nemoguće je sa sigurnošću odrediti da će fenotip djeteta biti uredan. Taj problem stoga predstavlja područje intenzivnog istraživanja, ponajprije u smislu određivanja odnosa genotip-fenotip, što će u budućnosti znatno olakšati genetičko savjetovanje, posebno u okviru prenatalne dijagnostike.

LITERATURA

1. Zergorltern LJ. Strukturne kromosomske promjene U: Sambolek-Hrbić E. Medicinska genetika 1. Školska knjiga, Zagreb 1991; 34 – 37.
2. Bonthron D, Fitz Patric D, Porteous M, Trainer A. Chromosome abnormalities. U: Clinical genetics a case-based approach. W.B. Saunders company 1998; 28-29.
3. Wassman ER, Cheyovich DL, Nakahara Y. Possibly *de novo* translocations: prenatal risk counselling. Am J Obstet Gynecol 1989; 161: 698-702.
4. Warburton D. De Novo Balanced Chromosome Rearrangements and Extra Marker Chromosomes Identified at Prenatal Diagnosis: Clinical Significance and Distribution of Breakpoints. Am J Hum Genet 1991; 49:995-1013.
5. Breg W.R, Miller DA, Allderdice PW. Identification of translocation chromosomes by quinacrine fluorescence. Am J Dis Child 1972; 123:561-564.
6. Nishikawa M, Ichiyama T, Hayashi T, Furukawa S. Mobius-like syndrome associated with a 1; 2 chromosome translocation. Clin Genet 1997; 51:122-123.
7. Kumar A, Becker LA, Depinet TW, Haren JM, Kurtz CL, Robin NH, Cassidy SB, Wolff DJ, Schwartz S. Molecular characterization and delineation of subtle deletions in the *de novo* «balanced» chromosomal rearrangements. Hum Genet 1998; 103: 173-178.
8. Wienberg J, Muller S. Chromosome bar codes: defining karyotypes with molecular tags by multi color FISH. ECA newsletter 2002; 9: 3-7.
9. Teixeira MR. Combined classical and molecular cytogenetic analysis of cancer. Eur J Cancer 2002; 38:1580-1584.
10. Ledbetter DH, Engel E. Uniparental disomy in humans: development of an imprinting map and its implications for prenatal diagnosis. Hum Molecular Genet 1995; 4:1757-1764.
11. Wang JCC. Genomic imprinting and uniparental disomy. U: Gersen SL, Keagle MB: The principles of clinical cytogenetics. Humana Press Totowa New Jersey 1999, 473-499.
12. OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man, center for Medical Genetics, John Hopkins University (Baltimore,MD) and National Centre for Biotechnology Information, national Library of medicine, Bethesda,MD
13. Park SY, Kim JW, Kim YM, Kim JM, Lee MH, Lee BY, Han JY, Kim MY, Yang JH, Ryu HM. Frequencies of fetal chromosomal abnormalities at prenatal diagnosis: 10 years experiences in a single institution. J Korean Med Sci. 2001; 16(3): 290-3.
14. Abrams L, Cotter PD. Prenatal diagnosis of *de novo* X; autosome translocations. Clin Genet. 2004; 65: 423-8.
15. Warburton D. Outcome of cases of *de novo* structural rearrangements diagnosed at amniocentesis. Prenat Diagn. 1984; 4:69-80
16. Weier HU, Munne S, Fung J. Patient-specific probes for preimplantation genetic diagnosis of structural and numerical aberrations in interphase cells. J Assist Reprod Genet. 1999; 16: 182-191.