

# Aberracje chromosomowe jako przyczyna poronień samoistnych

## Chromosomal aberrations – the cause of spontaneous abortions

Dorota Rابيةga-Gmyrek<sup>1</sup>, Tomasz Olejniczak<sup>1</sup>, Joanna Niepsuj-Biniaś<sup>1</sup>, Bogna Guglas-Bochyńska<sup>1</sup>, Paweł Jachowski<sup>1</sup>, Anna Latos-Bieleńska<sup>2</sup>, Tomasz Opala<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Zdrowia Matki i Dziecka Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Polska

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Genetyki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Centrum Genetyki Medycznej Genesis w Poznaniu, Polska

### Streszczenie

Jedną z najczęstszych przyczyn poronień samoistnych jest czynnik genetyczny. W badaniu techniką mikromacierzy stwierdzono, że około 75% poronionych zarodków miało aberrację chromosomową. Rzadszymi przyczynami mogą być submikroskopowe rearanżacje genomowe, choroby jednogenowe, choroby zarodka dziedziczone wielogenowo.

**Cel pracy:** Celem pracy była analiza częstości występowania aberracji chromosomowych w materiale z poronień.

**Materiał i metody:** Materiał stanowiło 47 kosmówek z poronień samoistnych od 47 kobiet. Do oznaczenia kariotypu zastosowano metodę fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH).

**Wyniki:** Aberracje chromosomowe rozpoznano w 72% kosmówek. Najczęściej wystąpiła trisomia 21 pary (25,5%), trisomia 16 pary (17%), trisomia 18 pary (12,8%). U 1 pacjentki wykryto nieprawidłową liczbę kopii chromosomu 18,21,22, co wskazuje na współistnienie trisomii 18,21,22. U 14 kobiet (29,8%)t było to kolejne poronienie.

**Wnioski:** Aberracje chromosomowe rozpoznano w większości kosmówek uzyskanych z poronień samoistnych. Bardzo rzadko występuje kilka aberracji chromosomowych w jednym zarodku. W grupie wiekowej kobiet powyżej 35 roku życia poronienia były skutkiem aberracji chromosomowych w znaczącej większości.

Słowa kluczowe: **aberracje chromosomowe / poronienie samoistne / kosmówka /**

### Adres do korespondencji:

Dorota Rابيةga-Gmyrek  
Klinika Zdrowia Matki i Dziecka UM  
ul. Polna 33, 60-687 Poznań, Polska  
Tel. 601 884 678  
e-mail: drابيةga@gpsk.am.poznan.pl

Otrzymano: 21.07.2014  
Zaakceptowano do druku: 10.11.2014

Dorota Rabięga-Gmyrek, et al. Aberracje chromosomowe jako przyczyna poronień samoistnych.

## Abstract

The genetic factor remains the most frequent cause of spontaneous abortions. Examination of the fetal tissue from spontaneous miscarriages shows that 75% of them were caused by abnormal karyotype. Other reasons, albeit rare, included submicroscopic genomic rearrangements, monogenic diseases, and polygenic inheritance disorders of the embryo.

**Objective:** The aim of the study was to analyze the incidence of chromosomal aberrations in material from the miscarriage.

**Material and methods:** The study included 47 samples of miscarriage material from 47 women. Fluorescent hybridization in-situ (FISH) was used for genetic examination.

**Results:** Chromosomal abnormalities were diagnosed in 72% of the samples, with trisomy 21 (25.5%), trisomy 16 (17%), and trisomy 18 (12.8 %) as the most common. An abnormal number of copies of chromosome 18,21,22, indicating the coexistence of trisomy 18,21,22, was detected in 1 patient. It was another miscarriage in case of 14 subjects (29.8%).

**Conclusions:** Chromosomal aberrations were diagnosed in the majority of fetal tissue samples from spontaneous miscarriages. More than one chromosomal aberration in a single embryo is an extremely rare occurrence. Miscarriage due to chromosomal aberrations occurred in the vast majority of women >35 years of age.

Key words: **chromosomal aberration / miscarriages / chorion /**

## Wstęp

Jedną z ważniejszych przyczyn poronień samoistnych jest czynnik genetyczny. Wśród nich najczęściej występują trisomie (szczególnie często trisomia 16 pary), monosomia X, triploidia, i tetraploidia [1, 2, 3].

Aberracja chromosomowa może być skutkiem dziedziczenia od jednego lub obu rodziców lub wystąpić *de novo*. Większość aberracji chromosomowych u zarodka, a zwłaszcza dotyczących liczby chromosomów występuje *de novo*. Tylko u 3-6% rodziców, u których rozpoznano poronienia nawracające stwierdzono nosicielstwo aberracji chromosomowej. Osoby będące nosicielkami aberracji nie wykazują zmian fenotypowych. Mają jednak więcej gamet z nieprawidłowym materiałem genetycznym.

Z kolei u młodych, płodnych kobiet 20-30% oocytów wykazuje aberrację chromosomową, a ilość aberracji w gametach rośnie wraz z wiekiem kobiety. Według Farfalli i wsp. 6-7% plemników u młodych, zdrowych mężczyzn ma aberrację chromosomową [4]. Procent ten wzrasta w przypadku ciężkiej oligoasthenoteratospermii lub azoospermii. W komórkach jajowych i plemnikach mogą być także submikroskopowe zmiany genomowe i mutacje pojedynczych genów.

Submikroskopowe rearanżacje genomowe mogą także powstawać *de novo* lub wynikać z ich nosicielstwa u jednego z rodziców. Miejscem szczególnie częstego występowania rearanżacji genomowych są subtelomery [1, 7, 8]. Ciężkie choroby jednogennowe zarodka i płodu są znacznie rzadziej przyczyną obumarcia zarodka. W przypadku wczesnych poronień samoistnych choroby jednogennowe są trudne do wykazania.

Genotyp matki ma także znaczenie dla rozwoju ciąży. Większe ryzyko poronień samoistnych mają nosicielki heterozygotycznej mutacji w genie NLRP7 w 19q13.4 [9]. Opisano także skrócenie sekwencji telomerowych u kobiet z poronieniami nawracającymi [10].

Wykazano również możliwy wpływ zmutowanego allele 20201A genu protrombiny na ryzyko występowania poronień nawracających w I trymestrze ciąży (badanie na grupie 150 kobiet). Niezbędne są dalsze badania w większej liczbie kobiet

z poronieniami nawracającymi oraz uwzględniające jednocześnie inne polimorfizmy warunkujące trombofilię [11].

U par korzystających z metody IVF-ET diagnostyka preimplantacyjna (ang. *preimplantation genetic diagnosis* – PGD) jest metodą pozwalającą na genetyczną analizę komórek jajowych przed zapłodnieniem bądź też zarodków przed transferem do jamy macicy. Badanie mogą wykonać pary, u których w poprzednich ciążach rozpoznano aneuploidie u zarodka. Badanie to pozwala wyeliminować zarodki z trisomią chromosomu 13, 21, 18, zespołem Klinefeltera (XXY), monosomią chromosomu X. Drugą grupę pacjentów stanowią osoby ze zdiagnozowanym nosicielstwem chorób genetycznych.

Diagnostykę preimplantacyjną można przeprowadzić na oocytach matki bądź blastomerach zarodka. Badanie komórek jajowych polega na biopsji polocyty – ciała kierunkowego (badany jest materiał pochodzący wyłącznie od matki). Biopsja blastomeru daje możliwość zbadania materiału pochodzącego od obojga rodziców. Ze względu na to, że na wczesnym etapie rozwoju nie następuje jeszcze różnicowanie się komórek, sama biopsja zarodka nie niesie za sobą ryzyka jego uszkodzenia.

Większość zarodków z aberracją chromosomową ulega samoistnemu poronieniu. Dlatego odsetek aberracji chromosomowych znacząco maleje wraz z wiekiem ciążowym.[12]

## Cel pracy

Celem pracy była analiza częstości występowania aberracji chromosomowych w materiale z poronień. Cel pracy był realizowany poprzez ocenę cytogenetyczną materiału – kosmówek uzyskanych z poronień samoistnych.

## Materiał i metody

Materiał stanowiło 47 kosmówek z poronień samoistnych od 47 kobiet.

Świeże kosmówki pobrano od kobiet hospitalizowanych od 01.01.2012 do 01.02.2014 w Ginekologiczno-Położniczym Szpitalu Klinicznym Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Średni wiek pacjentek wynosił 32,5 lat

Dorota Rabięga-Gmyrek, et al. *Aberracje chromosomowe jako przyczyna poronień samoistnych.*

(24-42 lata). Dla 16 pacjentek była to pierwsza ciąża (34%), dla pozostałych 31 – kolejna (66%).

Badania cytogenetyczne wykonano w Pracowni Genetyki Molekularnej i Onkologicznej Laboratorium Diagnostyki Genetycznej Centrum Genetyki Medycznej Genesis w Poznaniu. Materiał pobrano w czasie zabiegu wyłyżeczkowania ścian jamy macicy i przetransportowano w ciągu 24 godzin w sterylnym pojemniku z podłożem transportowym do Centrum Genetyki Medycznej Genesis. Do oznaczenia kariotypu zastosowano metodę fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) polegającej na denaturacji podwójnej nici DNA badanego chromosomu, a następnie hybrydyzacji sondy ze specyficznym dla niej miejscem na chromosomie.

Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej: testem t-studenta (dla rozkładu normalnego) oraz testem U Manna-Whitneya (w przypadku braku normalności rozkładu).

## Wyniki

Analizie poddano 47 kosmówek pozyskanych z 47 poronień. Uzyskano 34 wyniki cytogenetyczne nieprawidłowe (72,3% analizowanych kosmówek) - tabela I.

W tabeli II przedstawiono częstość występowania poszczególnych aberracji chromosomowych, z uwzględnieniem średniego wieku ciążowego i średniego wieku matki.

W 34 % przypadków materiał pochodził z pierwszej ciąży, w 36% z drugiej ciąży, w 25% - z trzeciej, w 2% - z czwartej, w 2% - z piątej. Najczęstszą aberracją chromosomową była trisomia 21 pary, która wystąpiła w 12 kosmówkach (25,5% poronionych kosmówek). Na drugim miejscu pod względem częstości była trisomia 16 pary – 8 kosmówek (17%), na trzecim - trisomia 18 pary – 6 kosmówek (12,8%). Monosomię rozpoznano w trzech przypadkach (6,4% wszystkich ocenianych poronionych kosmówek).

W jednym przypadku rozpoznano obecność trzech różnych aberracji chromosomowych (w obrębie jednej kosmówki); były to: trisomia 18,21 i 22 pary u zarodka płci męskiej u 26 letniej pacjentki.

Wśród poronionych zarodków płę męską stwierdzono w 23 przypadkach (48%), a płę żeńską w 24 przypadkach (52%). Płę męską rozpoznano w 8 przypadkach trisomii 21 (66,6%), a żeńską w 4 przypadkach trisomii 21 (33,4%). Płę męską rozpoznano w jednym przypadku trisomii 16 pary (12,5%), płę żeńską w 7 przypadkach trisomii 16 pary (87,5%). Płę męską rozpoznano w trzech przypadkach trisomii 18 pary (50%), płę żeńską w trzech przypadkach trisomii 16 pary (50%).

Występowanie najczęstszych trisomii w zależności od wieku matki przedstawiają ryciny nr 1,2 i 3.

## Dyskusja

Jedną z ważniejszych przyczyn poronień samoistnych jest czynnik genetyczny. Według różnych autorów częstość aberracji chromosomowych może wahać się od 38 do 83% [13, 14, 15]. Trisomie stanowią od 37% (Jauniaux i Hastin) do 76% (Strom) wszystkich aberracji, poliploidie od 9% (Ohno) do 31% (Brajnovic-Milic), monosomie X od 7% (Ohno) do 25% (Jauniaux i Hastin). Częstość występowania aberracji strukturalnych według poszczególnych badaczy waha się od zera (Strom) do 9% (Ford) [5, 6].

Według Carp i wsp. najczęstszą aberracją chromosomową była trisomia 21 pary chromosomów, a następnie według kolejności trisomia 16 i 18 pary [16, 17]. W materiale własnym uzyskano podobne wyniki. Najczęstszymi aberracjami chromosomowymi były: trisomia 21, 16 i 18 pary (odpowiednio 25,5%, 17%, 12,8%).

W badaniu Kwineckiej-Dmitriew i wsp. na podstawie oceny 120 kosmówek z ciąż poronionych aberracje rozpoznano w przypadku 37,5% kosmówek, z czego trisomie stanowiły 42,2%,

Tabela I. Charakterystyka badanego materiału (kosmówek).

Wynik badania cytogenetycznego	Prawidłowy*	Nieprawidłowy
Liczba kosmówek	13	34
Średni wiek ciążowy (lata)	9,2	8,9
Średni wiek matki (lata)	31,3	33

\*Prawidłowa liczba chromosomów 4,13,15,16,18,21,22,X,Y  
NS – brak istotności

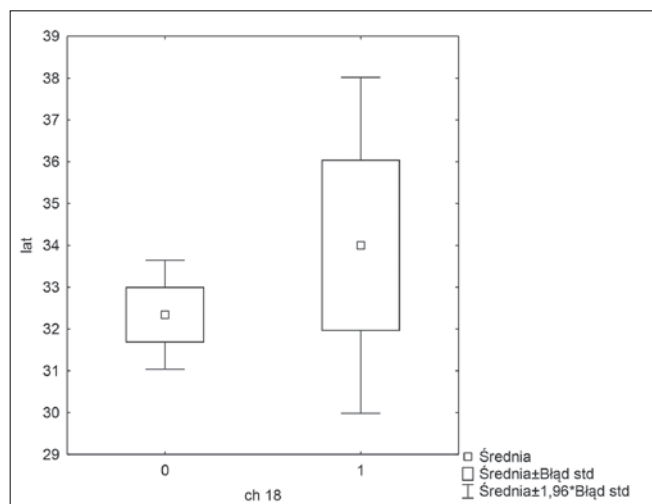
Tabela III. Częstość występowania poronień w zależności od liczby przeżytych ciąż.

Liczba ciąż	Ilość pacjentek	Częstość poronień (%)
1	16	16
2	17	33
3	12	45
4	1	46
8	1	47

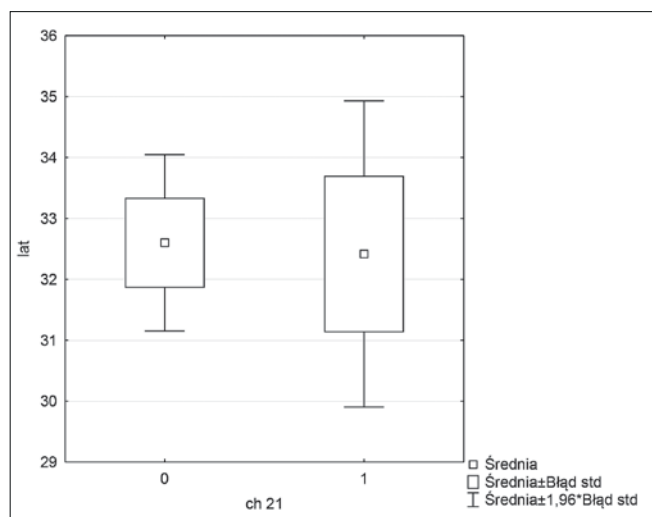
Tabela II. Częstość występowania aberracji chromosomowych z uwzględnieniem wieku matki i tygodnia ciąży.

Rozpoznane aberracje chromosomowe	Trisomia 21	Trisomia 16	Trisomia 18	Trisomia 13	Monosomia	Trisomia 22	Trisomia 4	Trisomia 15
Liczba kosmówek (%)	12 (25,5%)	8 (17%)	6 (12,8%)	4 (8,5%)	3 (6,4%)	2 (4,2%)	1 (2%)	0
Średni wiek matki (lata)	32,0	31,5	34,0	32,5	37,0	27	35,0	0
Średni wiek ciążowy (tydzień)	8,5	9,0	7	10,5	9,5	8,00	9,5	0

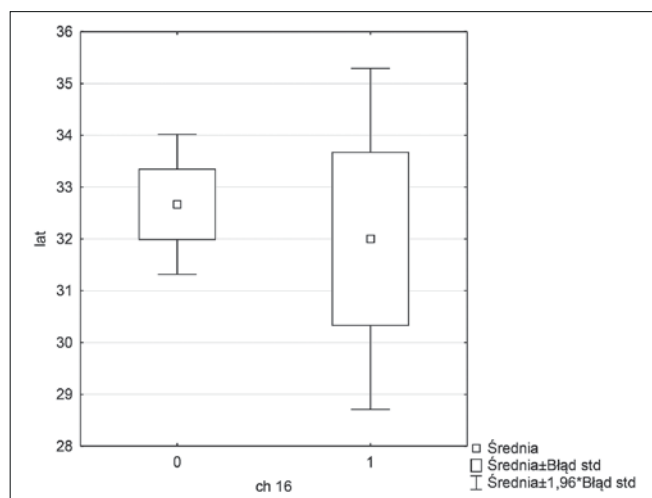
Dorota Rabięga-Gmyrek, et al. Aberracje chromosomowe jako przyczyna poronień samoistnych.



Rycina 1. Występowanie trisomii 18 w zależności od wieku matki (0 = brak trisomii, 1=trisomia).



Rycina 2. Występowanie trisomii 21 w zależności od wieku matki (0 = brak trisomii, 1 = trisomia).



Rycina 3. Występowanie trisomii 16 w zależności od wieku matki (0 = brak trisomii, 1=trisomia).

triploidie 33,3%, monosomia X 20,0%. Najczęstsza trisomią była trisomia 16 pary (20,0%) [13].

Badanie Fritza także wskazuje, że na 60 ocenionych kosmówek najczęściej występowała trisomia 16 pary (32% wszystkich aneuploidii).

W największym dotychczas opublikowanym badaniu Forda oceniono 1607 kosmówek, z czego aberracje wykazano w 54,6%, a trisomie stanowiły aż połowę z nich [6].

W obszernej analizie 11 badań obejmujących kosmówki uzyskane z ciąży poronionych rzadkie przyczyny aberracji chromosomowych stanowią od 3% aż do 29% przyczyn. Są to podwójne lub potrójne trisomie, mozaicyzm, monosomia autosomalna. Autorzy tej pracy potrójną trisomię rozpoznali w jednym przypadku (2,1%).

Według Goddfijn poronienia w 86% powodowane są aberracjami liczby chromosomów, a tylko w 6% to aberracje struktury, 8% to mozaicyzm. Oceniono, że ryzyko powtórzenia aberracji dotyczącej liczby chromosomów jest niskie. Natomiast połowa aberracji strukturalnych jest powodowana nosicielstwem translokacji zrównoważonej lub inwersji przez jednego z rodziców [5].

Poronienia nawracające dotyczą 1-2% kobiet w wieku rozrodczym. U 2-5% rodziców z rozpoznanymi poronieniami nawracającymi oraz u 0,5% populacji żywo urodzonych noworodków rozpoznano strukturalne aberracje chromosomowe [7].

Poza najczęściej cytowanymi aberracjami jak trisomie, poliploidie, monosomia X przyczyną nawracających poronień mogą być także niezrównoważone rearanżacje strukturalne (najczęściej translokacje). Niezrównoważone rearanżacje chromosomowe z udziałem telomerów są przyczyną wad wrodzonych i upośledzenia umysłowego. Rearanżacje chromosomowe mogą odpowiadać za nawracające poronienia w przypadku gdy jeden z rodziców jest nosicielem translokacji zrównoważonej [8].

Według Ljunger straty ciąży z powodu zaburzeń chromosomowych po 15 tygodniu ciąży są obserwowane rzadko [6].

Prawdopodobieństwo wystąpienia aneuploidii w oocytach jest najbardziej związane z wiekiem matki. Analiza ciałek kierunkowych wykazała wysoką predyspozycję do błędów w czasie mejozy w oocytach. Zarodki obarczone aberracją chromosomową są także ronione w stadium przedimplantacyjnym. Częstość zaburzeń chromosomowych jest ściśle związana także z takimi czynnikami jak: zaburzenia kariotypu rodzicielskiego, nawracające poronienia w wywiadzie, ekstrakcja plemników z jądra (TESE) [4]. Według Farfalli przedimplantacyjna diagnostyka genetyczna w przypadku zastosowania technik wspomaganego rozrodu u matek w starszym wieku zmniejsza ryzyko ciąży z trisomią o połowę [4].

Podsumowując należy podkreślić, że znajomość przyczyny poronień ma znaczenie rokownicze dla następnych ciąż. Wskazaniem do badania cytogenetycznego materiału z poronienia jest wystąpienie trzech lub więcej poronień.

## Wnioski

Aberracje chromosomowe rozpoznano w większości kosmówek uzyskanych z poronień samoistnych.

Bardzo rzadko występuje kilka aberracji chromosomowych w jednym zarodku.

W grupie wiekowej kobiet powyżej 35 roku życia poronienia były skutkiem aberracji chromosomowych w znaczącej większości.

Dorota Rabięga-Gmyrek, et al. *Aberracje chromosomowe jako przyczyna poronień samoistnych.*

K O M U N I K A T

**Oświadczenie autorów:**

1. Dorota Rabięga-Gmyrek – autor koncepcji i założeń pracy, przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa – autor zgłaszający i odpowiedzialny za manuskrypt.
2. Tomasz Olejniczak – zebranie materiału, analiza statystyczna wyników, przygotowanie manuskryptu.
3. Joanna Niepsuj-Biniaś – współautor protokołu, aktualizacja literatury.
4. Bogna Guglas-Bochyńska – autor interpretacji wyników.
5. Anna Latos-Bieleńska – wykonanie badań laboratoryjnych, ostateczna weryfikacja i akceptacja manuskryptu.
6. Tomasz Opala – ostateczna weryfikacja i akceptacja manuskryptu.

**Źródło finansowania:**

Praca nie była finansowana przez żadną instytucję naukowo-badawczą, stowarzyszenie ani inny podmiot, autorzy nie otrzymali żadnego grantu.

**Konflikt interesów:**

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

**Piśmiennictwo**

1. Firth H, Hurst J, Hall J: Oxford Desk Reference: *Clinical Genetics*. Oxford University Press, Oxford 2006.
2. Passarge E: Genetyka. PZWL, 2004.
3. Schaeffer A, Chung J, Heretis K, [et al.]. Comparative genomic hybridization – array analysis enhances the detection of aneuploidies and submicroscopic imbalances in spontaneous miscarriages. *Am J Hum Genet*. 2004, 74 (6), 1168-1174.
4. Farfalli V, Magli M, Ferraretti A, Gianaroli L. Role of aneuploidy on embryo implantation. *Gynecol Obstet Invest*. 2007, 64, 161-165.
5. Goddijn M, Leschot NJ. Genetic aspects of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2000, 14 (6), 855-865.
6. Ljunger E, Cnattingius S, Lundin C, Anneren G. Chromosomal anomalies in first-trimester miscarriages. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005, 84, 1103-1107.
7. Cockwell A, Jacobs P, Beal S, Croela JA. A study of cryptic terminal chromosome rearrangements in recurrent miscarriage couples detects unsuspected acrocentric pericentromeric abnormalities. *Hum Genet*. 2003, 112, 298-302.
8. Monfort S, Martinez F, Rosello M, [et al.]. A subtelomeric translocation apparently implied in multiple abortions. *J Assist Reprod Genet*. 2006, 23 (2), 97-101.
9. Qian J, Deveault C, Bagga R, [et al.]. Women heterozygous for NALP7/NLRP7 mutations are at risk for reproductive wastage: Report of two novel mutations. *Hum Mutat*. 2007, 28 (7), 741-749.
10. Hanna C, Bretherick KL, Gair J, [et al.]. Telomere length and reproductive aging. *Hum Reprod*. 2009, 24 (5), 1206-1211.
11. Barlik M, Seremak-Mrozikiewicz A, Kraśnik W, Drews K. Polimorfizmy 20210G>A i 19911A>G genu protrombiny a występowanie poronień nawracających. *Ginekol Pol*. 2013, 84, 830-834.
12. Carp HJ. Recurrent miscarriage: genetic factors and assessment of the embryo. *Isr Med Assoc J*. 2008, 10, 229-231.
13. Kwinecka-Dmitriew B, Zakrzewska M, Latos-Bieleńska A, Skrzypczak J. Frequency of chromosomal aberrations in material from abortions. *Ginekol Pol*. 2010, 81 (12), 896-901.
14. Warburton D, Dallaire I, Thangavelu M, [et al.]. Trisomy recurrence: a reconsideration based on North American data. *Am J Hum Genet*. 2004, 75, 376-385.
15. Berghella M, Achenbach A. Recurrent pregnancy loss. In: *Obstetric Evidence Based Guidelines*. Ed. Berghella V. London: UK and New York: USA: *Informa Healthcare*, 2007;142-149.
16. Carp H, Toder V, Avirama A, [et al.]. Karyotype of the abortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril*. 2001, 75, 678-682.
17. Carp H, Guetta E, Dorf H. Embryonic karyotype in recurrent miscarriage with parental karyotypic aberrations. *Fertil Steril*. 2006, 85, 446-450.

International Society of Ultrasound  
in Obstetrics & GynecologyEuropean Association  
of Perinatal MedicineUltrasound Section of Polish  
Society of Gynecology

**International Society of Ultrasound  
in Obstetrics & Gynecology – ISUOG**

**European Association of Perinatal Medicine**

oraz

**Sekcja USG PTG**

zapraszają  
w dniach 14-16. 05. 2015

na kurs

**ULTRASOUND  
AND CLINICAL DECISIONS**

(prezentacja przypadków „live”, tłumaczenie simultaniczne)

**Pre-kurs w dniu 14.05.2015  
ULTRASONOGRAFIA GINEKOLOGICZNA**

**Wykładowcy:**

Członkowie ISUOG z całej Europy

**Kierownik Kursu:**

MARIUSZ DUBIEL (ISUOG – Polska)  
MAREK PIETRYGA (ISUOG – Polska)

**Miejsce obrad:**

Toruń, Hotel Bulwar, ul. Bulwar Filadelfijski

**Zgłoszenia:****www.regomed.pl**

tel. 663 064 000

**Uczestnicy Kursu otrzymają certyfikat uczestnictwa  
International Society of Ultrasound in Obstetrics & Gynecology  
– ISUOG**

oraz

**30 punktów edukacyjnych USG PTG**