

СЛУЧАЈ ДОЈЕНЧЕТА СА КАРИОТИПОМ 46,XY,der7,t(7;10)(q34;p15)mat

Радмила Малешевић, Љиљана Солумун, Небојша Јованић

Клинички центар Бања Лука, Цитогенетска лабораторија, Клиника за дјечије болести,
Клиника за гинекологију и акушерство, Дванаест беба бб, 78000 Бања Лука

Abstract

MALEŠEVIĆ, Radmila, Ljiljana SOLOMUN, N. JOVANIĆ: A CASE OF INFANT WITH KARYOTYPE 46,XY,der7,t(7;10)(q34;p15)mat. Skup 2: 325-331. [Clinical Centre of Banja Luka, Dvanaest beba Street, 78000 Banja Luka].

Cytogenetic analysis was performed on a term born male infant with multiple anomalies and his parents. Chromosomes were obtained from peripheral lymphocytes using Moorhead's modified method and their identification was done using the method of G bands (Seabright). All cells of proband showed 46 chromosomes with derivative chromosome 7. After chromosomal analysis his parents, was showed that a mother is a carrier of balanced translocation between chromosomes 7 and 10, with break points in 7q34 and 10p15. Her karyotype was 46,XX,t(7;10)(q34;p15) and father's karyotype was normal 46,XY. The karyotype of proband is a result of fertilization between a mother's unbalanced gamete, which is due ADJACENT-1 TYPE of meiotic segregation and a father's normal gamete. The karyotype of proband was established as 46,XY,der7,t(7;10)(q34;p15)mat.

Key words: cytogenetic analysis, infant, anomalies, chromosomes, proband, parents, karyotype, gamete, meiotic segregation.

Сажетак

Урађена је цитогенетска анализа дојенчета са могобројним аномалијама, а такође, и његових родитеља. Хромозоми за анализу добијени су из лимфоцита периферне крви, модификованом Мурхедовом методом, а њихова идентификација је извршена методом Г трака (по Сибрајтовој). У свим ћелијама пробанда, које су садржавале 46 хромозома, био је присутан дериват хромозома 7. Након хромозомске анализе његових родитеља, утврђено је да је мајка носилац балансиране транслокације хромозома 7 и 10, са тачкама прекида, у регионима 7q34 и 10p15. Њен кариотип је 46,XX,t(7;10)(q34;p15), а кариотип оца је био нормалан 46,XY. Кариотип дјетета је резултат оплодне између мајчине небалансиране гамете, која је настала, по типу ADJACENT-1 мејотског раздвајања и очеве нормалне гамете. На основу цитогенетске анализе родитеља, утврђени кариотип дјетета је 46,XY,der7,t(7;10)(q34;p15)mat.

Кључне ријечи: цитогенетска анализа, дојенче, аномалије, хромозоми, пробанд, родитељи, кариотип, гамете, мејотско раздвајање.

УВОД

Хромозоми представљају најкомплексније компоненте једра, чији састав највећим дијелом чини ДНК као носилац насљедних јединица, односно, гена. Њихов изглед се мијења у различитим фазама ћелијске диобе, а најбоље су видљиви у току метафазе, када се могу анализирати и бројити. Број и облик хромозома су карактеристика сваке врсте. Тачан број хромозома човјека су утврдили Тјо и Леван 1956.године.

Хромозомска гарнитура је сачињена од 46 хромозома односно 23 хромозомска пара, од којих су 22 пара аутозоми, док један пар представља полне хромозоме. Пар полних хромозома жене је XX, а мушкарца XY. Кариотип представља хромозомску конституцију особе (Ћупрак-Zergollern, 1980). Комплетна хромозомска гарнитура, са насљедним информацијама које носи, неопходна је за нормалан развој људске јединке. Промјене насљедног материјала, било оне мање на генском, или оне веће на хромозомском нивоу, могу проузроковати различита патолошка стања код човјека. Њихове посљедице могу се огледати у неправилном физичком и (или) менталном развоју јединке, а могу да доведу и до спонтаних побачаја, ране постнаталне смрти или леталног исхода у каснијој животној доби (Zergollern et al., 1994).

Хромозоми 7 и 10 су субметацентрични хромозоми хуманог кариотипа. Најзначајнији гени за практичну клиничку генетику на хромозому 7 су: ген за цистичну фиброзу (CFTR), Osteogenesis imperfecta (COL 1 A2), недостатак бета-глукуронидазе (GUSB), MET про-онкоген и сл. На хромозому 10 налазе се MEN2 (мултипла ендокрина неоплазија тип2), FGFR (Fibroblast growth factor receptor 2) и др. (Michael Connor & Malcolm Ferguson-Smith, 1997.).

Цитогенетски синдроми оба хромозома укључују тризомију и монозомију кратког крака, тризомију и монозомију дугог крака, у ријетким случајевима ринг хромозом, затим **q32→q34** делецију хромозома 7. Неки од ових хромозомских синдрома настају *de novo* а неки су посљедица раздвајања хромозома у мејози родитеља са балансираном транслокацијом (Gruchy, Turleau, 1986).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Наш пробанд је мушко терминско дојенче, рођено из прве трудноће, од младих родитеља. Непосредно по породу уочене су бројне аномалије. Поменућемо само неке: микроцефалија, расцјеп усне и непца, широк и кратак врат са кожным набором, штитаст грудни кош, урођена срчана мана, деформације екстремитета и гениталија. На основу клиничког статуса постављена је индикација за одређивање кариотипа дојенчета, а затим и родитеља. Хромозоми су добијени култивацијом лимфоцита периферне крви и анализирани примјеном модификоване Мурхедове (Moorhead) методе. Идентификација хромозома је извршена методом Г трака по Сибрајтовој (Seabright).

Поступак за добијање хромозома састојао се од култивације лимфоцита периферне крви у току 72 часа на 37°C и њихове препарације. Хепаринисана венска крв је култивисана у RPMI 1640 медијуму за културу ћелија, обогаћеном са 20% феталног телећег серума. У културу је додан пеницилин у финалној концентрацији од 200 UI/мл, као и фитохемаглутинин, чија је финална концентрација износила 15µg/мл културе. Улога фитохемаглутина, као митогеног стимулатора, је да доведе до бластне трансформације Т лимфоцита, чиме настају лимфобласти, ћелије способне за ћелијску диобу. Диоба лимфобласта је заустављена у прометафази друге митотичке диобе, након 72 часа, додавањем онковина у финалној концентрацији од 2,5µg/мл културе. По истеку 3 часа, слиједио је поступак препарације, који се састојао од центрифугирања на 1500 обр/мин, за ослобађање од медијума, третмана ћелија хипотоничним раствором у трајању од 20 мин, на 37°C. За припрему хипотоничног раствора кориштен је 5,6% KCl и 3,8% Na-цитрат. Прије центрифугирања, тритоном је извршено лизирање еритроцита. Затим је слиједио поступак фиксирања ћелија, и то први пут у трајању од 15 мин, а други пут само као испирање у фиксативу. Фиксатив се састојао од мјешавине метанола и сирћетне киселине, у односу 3:1. Након посљедњег центрифугирања, ћелијски талог је ресуспендован у мало свјежег фиксатива, чиме је био спреман за

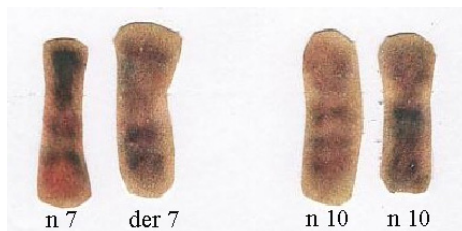
припрему препарата. На охлађена и мокра предметна стакалца, нанесено је пар капи ћелијске суспензије, након чега су препарати загријавани над пламеном. Такав третман је омогућио прскање једара лимфобласта и ослобађање метафазних хромозома потребних за анализу. Један од добијених препарата је класично обојен 10% раствором Гимзе у фосфатном пуферу. Остали препарати су одвојени за примјену техника идентификације. Припрема препарата по методи Сибрајтове за добијање Г трака и идентификацију хромозома састојала се у третману необојених препарата са 0,25% раствором трипсина DIFCO, у трајању 10 секунди и дуже, а затим у бојењу 10% Гимзом у цитратном пуферу. Анализа хромозома је урађена на 22 метафазна једра.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Цитогенетска анализа пробанда је показала да су све ћелије садржавале 46 хромозома, од којих је један хромозом 7 био измијењен, тј. имао је краћи q крак (Сл. 1.1 и 1.2).



Слика 1.1. Хромозоми дјетета у метафази



Слика 1.2. Хромозоми дјетета. Лијево је пар 7 (нормалан 7 и дериват 7). Десно је нормалан пар 10

Нађени дериват хромозома 7 условио је одређивање кариотипа родитељима. Цитогенетска анализа је показала да је мајка носилац балансиране транслокације хромозома 7 и 10, са тачкама прекида у регионима q34 и p15 (Сл. 2.1 и 2.2).



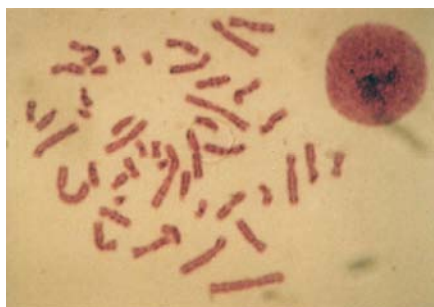
Слика 2.1. Мајчини хромозоми у метафази



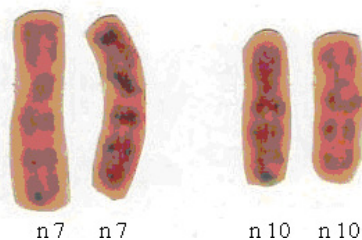
Слика 2.2. Мајчини хромозоми. Лијево је пар 7 (нормалан 7 и дериват 7). Десно је пар 10 (нормалан 10 и дериват 10)

Кариотип мајке је 46,XX,t(7;10)(q34;p15). Кариотип оца је био нормалан 46,XY (Сл.3.1 и 3.2). На основу цитогенетске анализе родитеља, утврђени кариотип дјетета је 46,XY,der7,t(7;10)(q34;p15)mat, а резултат је оплодње мајчине небалансиране гамете, настале ADJACENT-1 типом раздвајања, и очеве нормалне гамете. Овакав

небалансиран кариотип условио је неправилан развој читавог организма дојенчета са бројним аномалијама.

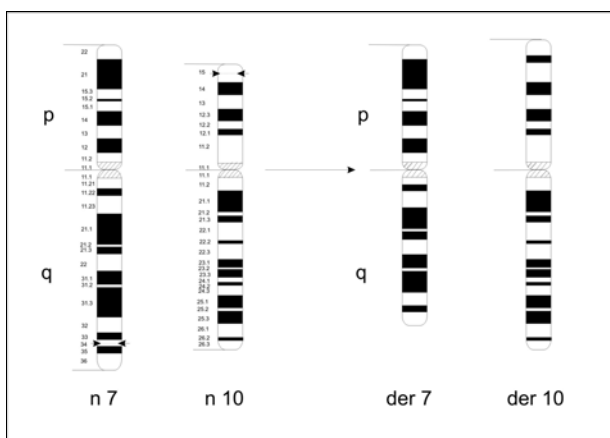


Слика 3.1. Очеви хромозоми у метафази



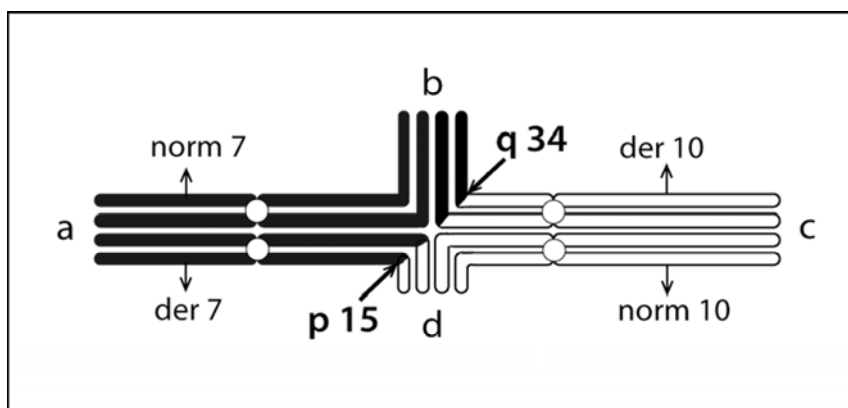
Слика 3.2. Очеви хромозоми. Лијево је нормалан пар 7. Десно је нормалан пар 10

Мајка нашег пробанда је фенотипски здрав носилац реципрочне транслокације између нехомологих хромозома 7 и 10. На слици бр. 4 шематски је приказан начин настанка ове транслокације, са означеним тачкама прекида на нормалним хромозомима.



Слика 4. Стрелицама су означена мјеста прекида на нормалним хромозомима (лијево), од којих су настали транслоцирани хромозоми мајке(десно)

Због своје хромозомске конституције, мајка носи висок ризик за стварање небалансираних гамета. Спаривање реципрочно транслоцираних хромозома 7 и 10 и њихових нормалних хомолога у профази прве мејотске диобе резултира формирањем крстасте тетравалентне конфигурације (Сл. 5).



Слика 5. Дијаграма пахитенске спарености хромозома мајке

Раздвајање, које затим слиједи, може се одвијати на више начина, и довести до настанка бројних различитих гамета (Табела 1). Једна од небалансираних гамета мајке (**ad cd**), настала ADJACENT-1 типом раздвајања, је оплођена очевом нормалном гаметом, и разлог је настанка небалансираног кариотипа приказаног дојенчета. Овим типом раздвајања, два сусједна хромозома са нехомологим центромерима су се распоредила на исти пол (Spasojević, 1978.). Први хромозом је транслокацијски (дериват 7) и носилац је дефицита $7q34 \rightarrow qter$ (парцијална 7q монозомија) и дупликације $10p15 \rightarrow pter$ (парцијална 10p тризомија), а други је нормални хромозом 10. Ово је само један од бројних случајева раздвајања, који би резултирали настанком небалансираних гамета, чијом оплодњом би настали небалансирани кариотипови зигота. Само алтернативним типом раздвајања хромозома, ствара се или нормална, или балансирана гамета. У случају оплодње са очевом нормалном гаметом, зигот би имао или нормалан кариотип, или балансирану транслокацију као мајка (Табела 1) (Čurak-Zergollern, 1980.).

Према подацима из литературе, већина $7q3$ монозомија настала је *de novo*, са тачкама прекида у $q32$, а у ријетким случајевима више дистално у $q35$. Мањи број случајева је последица раздвајања хромозома родитеља, носилаца балансиране транслокације (Grouchy, Turleau 1986.). Описано је и неколико случајева монозомичне дјецe са $q32 \rightarrow q34$ делецијом, која је настала као последица раздвајања родитељске инсерције (Nielsen et al. 1974.).

Најважнија карактеристика фенотипа код $7q3$ монозомија је микроцефалија. У случају нашег пробанда је присутна и микроцефалија и расцјеп усне и непца, као и код других $7q3$ монозомија, а извјесна је и ментална ретардација.. Изузетак су случајеви $q32 \rightarrow q34$ делеција, код којих се не јавља ни расцјеп усне, нити микроцефалија. Парцијална 7q монозомија и парцијална 10p тризомија, као резултат ријетког хромозомског реаранжмана код мајке, чине приказани случај и хромозомски и фенотипски различитим од других $7q3$ монозомија. У литератури смо нашли случај нормалног мушкарца са реципрочном транслокацијом хромозома (7;10), као у мајке нашег пробанда, али са другим тачкама прекида на ова два хромозома. Његов кариотип је био 46,XY,t(7;10)(p12;q22).

Провјера мјеста прекида на хромозомима у транслокацији може се извршити помоћу FISH методе.. У случају дојенчета и његове мајке урађена је FISH анализа, услужношћу Одјељења за медицинску генетику, Медицинског факултета у Софији, Бугарска, са једином ДНК пробом, којом су располагали за 7q. Међутим, те резултате

нисмо приказали, пошто се ДНК проба односила на 7q31 регион, а не на циљани q34, који је био интересантан у нашем случају.

Табела 1. Типови раздвајања хромозома, гамете и кариотипови зигота, као резултат мајчине балансиране транслокације (7:10)

ТИПОВИ РАЗДВАЈАЊА	ГАМЕТЕ	КАРИОТИПОВИ ЗИГОТА
ADJACENT-1	ab cb ad cd	46,XX,der10,t(7;10)(q34;p15) 46,XY,der7,t(7;10)(q34;p15)
ADJACENT-2	ab ad cb cd ab ab ad ad cb cb cd cd	46,XX,-10,+der7,t(7;10)(q34;p15) 46,XY,-7,+der10,t(7;10)(q34;p15) 46,XX,+7,-10 46,XY,-7,-10,+der7,+der10,t(7;10)(q34;p15) 46,XX,-7,-10,+der10,+der10,t(7;10)(q34;p15) 46,XY,-7+10
ALTERNATIVNO	ab cd ad cb	46,XX 46,XY,t(7;10)(q34;p15)
3:1	ab cb cd ad cb cd ad ab cd ad ab cb ad ab cb cd	47,XX+der10,t(7;10)(q34;p15) 45,XY,-7,-10,+der7,t(7;10)(q34;p15) 47,XX,-7,+der7,+der10,t(7;10)(q34;p15) 45,XY,-10 47,XX,+der7,t(7;10)(q34;p15) 45,XY,-7,-10,+der10,t(7;10)(q34;p15) 47,XX,-10,+der7,+der10,t(7;10)(q34;p15) 45,XY,-7

ЗАКЉУЧАК

Приказани случај дојенчета има извјесних сличности у фенотипу са осталим 7q3 монозомијама. Међутим, прекид на хромозому 7 се ријеђе јавља у региону q34. Дефицит и дупликација генетског материјала, као резултат ријетког хромозомског реаранжмана код мајке, чине генотип и фенотип нашег случаја различитим од других 7q3 монозомија.

Мајка, као фенотипски здрав носилац транслокације (7;10), носи висок ризик стварања потомства са хромозомском неравнотежом. Његове посљедице се не могу у потпуности предвидјети. Родитељима је савјетовано да се у свакој наредној трудноћи изврши испитивање кариотипа плода. За сада је пренатална дијагноза једини начин превенције рађања дјетета са небалансираним кариотипом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Connor, M., M. Ferguson-Smith: **Essential Medical Genetics**. Blackwell Science Ltd, Carlton Victoria 3053, Australia, 1997.
2. Ćupak-Zergollern, Lj.: **Uvod u medicinsku genetiku**. Sveučilišna naklada. Zagreb. 1980.
3. Grouchy, J., C. Turleau: **Clinical Atlas of Human Chromosomes**. A Wiley Medical Publication. New York.Chichester.Brisbane. Toronto. Singapore. 1984.
4. Nielsen, K. B., F.Egede, I. Mouridsen, J. Morh: *J.med.Genet.*, 16 : 461-466. 1979.
5. Spasojević, V.: **Citogenetika**. Naučna knjiga, Beograd, 1978.

6. Zergollern,Lj. i suradnici: **Pedijatrija**. 1.knjiga. Naprijed, Zagreb, 1994.

Примљено: 14.12.2005.

Одобрено: 17.7.2007.