

Оригинални научни рад

РОБЕРТСОНОВЕ ТРАНСЛОКАЦИЈЕ И ЊИХОВЕ ПОСЉЕДИЦЕ – РЕЗУЛТАТИ ПРЕНАТАЛНЕ ДИЈАГНОСТИКЕ У УНИВЕРЗИТЕТСКОМ КЛИНИЧКОМ ЦЕНТРУ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

Бранислава Иванковић, Радмила Малешевић, Тијана Јарош, Марија Вуковић, Мирјана Берић, Свјетлана Ђајић Улетиловић, Свјетлана Стојановић

Универзитетски клинички центар Републике Српске, Завод за лабораторијску дијагностику, Одјељење за медицинску генетику, Дванаест беба бб, 78 000 Бања Лука

Abstract

IVANKOVIĆ Branislava, Radmila MALEŠEVIĆ, Tijana JAROŠ, Marija VUKOVIĆ, Mirjana BERIĆ, Svjetlana ĐAJIĆ ULETILOVIĆ, Svjetlana STOJANOVIĆ: ROBERTSONIAN TRANSLOCATIONS AND THEIR CONSEQUENCE – RESULTS OF PRENATAL DIAGNOSIS AT UNIVERSITY CLINICAL CENTER OF REPUBLIC OF SRPSKA [University Clinical Center of Republic of Srpska, Institute of Laboratory Diagnostics, Department of Medical Genetics, Dvanaest beba bb, 78000 Banjaluka]

Translocations are most common structure abnormality of human chromosome complement. It refers to transfer of genetic material from one chromosome to another, while it can be unreciprocal (insertion), reciprocal and Robertsonian translocations (RT). Robertsonian translocation is a type of translocation, which becomes as a result of breaking into two different or the same acrocentric chromosome (No 13, 14, 15, 21 and 22) at or near the centromere and fusion of their long arms. Carriers of these translocations have 45 chromosomes and balanced karyotype. Frequent recurrence of RT in general population is 1:1000. In period 2009-2015 year, at University Clinical Center of Republic of Srpska, Department of Medical Genetics, it was analyzed 5557 samples of amniotic fluid using prenatal cytogenetic diagnostics. Robertsonian translocation were detected in 7 cases. Six cases with RT (0,11%) had balanced karyotype, from which 2 cases (0,04%) between chromosome 13 and 14, in 3 cases (0,06%) between chromosome 13 and 22 and in one case (0,02%) between chromosome 15 and 22. In one case (0, 02%) it was detected unbalanced karyotype as a result of RT between chromosome 13 and 14. In 5 cases, origin of detected RT in karyotyp of fetus, was checked by karyotyping of parents. It was detected that in 4 cases parents were carriers of RT, while RT between chromosome 15 and 22 originated *de novo*. In two cases with RT, we didn't check parents. Because of possibility of malsegregation chromosomes in meiosis, carriers of RT, have a high risk of often spontaneous miscarriages as well as getting aberrant offsprings, and that is where cytogenetic diagnostics plays a great role all in line for having healthy offsprings.

Key words: Robertsonian translocation, prenatal diagnostics, karyotype.

Сажетак

Транслокације су најчешће структурне аберације хуманог хромозомског комплемента. Оне се односе на пренос генетичког материјала са једног хромозома на други, при чему могу бити нереципрочне (инсерције), реципрочне и Робертсонове транслокације (РТ). Робертсонова транслокација врста је транслокације, која настаје као посљедица прекида на два иста или различита акроцентрична хромозома (број 13, 14, 15, 21 и 22) у центромери или близу ње и фузије њихових дугих кракова. Носиоци ових транслокација имају 45 хромозома и балансирани кариотип. Учесталост РТ у општој популацији је 1:1000. У периоду 2009–2015. године пренаталном цитогенетичком дијагностиком у Одјељењу за медицинску генетику УКЦ РС, анализирано је 5557 узорака амнионске течности. У 7 случајева откривена је Робертсонова транслокација. Од тог броја, 6 случајева (0,11%) било је са балансираним кариотипом, и то у 2 случаја (0,04%) између хромозома 13 и 14, у 3 случаја (0,06%) између хромозома 13 и 22 и у једном случају (0,02%) између хромозома 15 и 22. У једном случају (0,02%) утврђен је небалансиран кариотип, као посљедица РТ између хромозома 13 и 14. У 5 случајева поријекло откривених РТ у кариотипу плода провјерено је кариотипизацијом родитеља. Утврђено је да су у 4 случаја родитељи носиоци РТ, док је РТ између хромозома 15 и 22 настала *de novo*. Код случаја са небалансираним кариотипом, као и код случаја РТ између хромозома 13 и 22, нисмо испитали родитеље. Због могућности нераздвајања хромозома у мејози, носиоци РТ, имају велики ризик за честе спонтане побачаје као и добијање аберантног потомства, стога цитогенетичка дијагностика има велику улогу у циљу добијања здравог потомства.

Кључне ријечи: Робертсонова транслокација, пренатална дијагностика, кариотип

УВОД

Транслокације су најчешће структурне аберације хуманог хромозомског комплемента. Оне се односе на пренос генетичког материјала са једног хромозома на други, при чему могу бити нереципрочне (инсерције), реципрочне и Робертсонове транслокације (РТ). Робертсонова транслокација врста је транслокације, која настаје као посљедица прекида на два иста (хомолога) или различита (хетеролога) акроцентрична хромозома (број 13, 14, 15, 21 и 22) у центромери или близу ње и фузије њихових дугих кракова. Кратки краци акроцентричних хромозома укључених у транслокацију обично се губе, што не доводи до посљедица код њихових носилаца, с обзиром на то да ови региони садрже само гене за рибозомалну РНК, чије копије постоје на другим акроцентричним хромозомима. Носиоци ових транслокација имају 45 хромозома и балансирани кариотип. Учесталост РТ у општој популацији је 1:1000 (Гућ-Шћекић и Радивојевић, 2009).

Око 95% свих РТ настају између хетерологих хромозома. РТ 13; 14 и 14; 21 најчешће су и представљају 75%, односно 10% случајева свих нехомологих РТ (Gershen и Keagle, 2005). Највећи проценат РТ наслеђује се, а свега 10% настаје *de novo*. Носиоци РТ, иако здраве особе, имају ризик за добијање аберантног потомства због специфичног спаривања транслоцираних хромозома у мејози (Гућ-Шћекић и Радивојевић, 2009). Најчешће носиоци ове транслокације нису ни свјесни да је имају, него се суочавају са тим тек када се одлуче за потомство. Ове особе могу да стварају 6 различитих типова гамета. У случају да у концепцији учествују нормални или балансирани гамети (алтернативно раздвајање), добиће се потомство са нормалним или балансираним кариотипом. Уколико у концепцији учествују небалансирани гамети (сусједно раздвајање), трудноће се могу

завршити спонтаним побачајем, мртворођењем или рађањем аберантног потомства (McKinlay Gardner и Sutherland, 2004).

Најчешћи синдроми који могу настати због РТ су Даунов и Патауов синдром. У просјеку 4,5% свих новорођених случајева Дауновог синдрома настаје као посљедица РТ гдје је укључен хромозом 21 (Pergament, 2008). Највећи клинички значај има РТ 14;21, због могућности да потомци носилаца ове транслокације преживе до рођења. Њихово небалансирано потомство са транслокацијским обликом Дауновог синдрома (три копије дугог крака хромозома 21) више је компатибилно са преживљавањем него потомство са транслокацијским обликом Патауовог синдрома (три копије хромозома 13). Случајеви са транслокацијским обликом Патауовог синдрома, могу бити рођени живи, али обично умиру у првим недјељама или мјесецима живота. Тризомија хромозома 14 је летална, као и тризомије хромозома 15 и 22, што има за посљедицу спонтане побачаје већ у раној гестациској доби (McKinlay Gardner и Sutherland, 2004).

Носиоци хомологих РТ веома су ријетки и немају могућност добијања нормалног потомства због стварања или нулизомичних или дизомичних гамета за акроцентричним хромозомом у РТ. У зависности од тога који је хомолог укључен у РТ, трудноћа се може завршити спонтаним побачајем, због монозомије или тризомије некомпатибилне са животом, или рођењем дјетета са Дауновим (хромозом 21) или Патауовим синдромом (хромозом 13) (Гућ-Шћекић и Радивојевић, 2009).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Кариотипизација плода урађена је из 5557 узорака амнионске течности добијених поступком амниоцентезе у Одјељењу за медицинску генетику Завода за лабораторијску дијагностику УКЦ Републике Српске у периду од јануара 2009. до септембра 2015. године.

Узорци амнионске течности засијавани су у комплетном хранљивом медијуму (Amniomed и Quantum) и култивисани су у инкубатору на 37°C, у атмосфери са 5% CO₂ у трајању 10–15 дана. Када је установљено да је у култури митотски индекс довољно висок и да се велики број ћелија налази у метафази, диоба је заустављана додавањем цитостатика колцемида у концентрацији 0.025 mg/1.0 ml културе. Након тога узорци су обрађивани, а од добијене ћелијске суспензије припремљени су препарати са хромозомима за анализу.

Кариотипизација родитеља рађена је анализом хромозома добијених из лимфоцита периферне крви који су култивисани у RPMI 1640 медијуму са феталним телећим серумом и фитохемаглутинином (phytohaemagglutinin – РНА). Митогеним дјеловањем РНА који се додаје у концентрацији од 0.03%, долази до бластне трансформације лимфоцита и њихове диобе унутар 72 сата на температури од 37°C. Након тог времена, ћелијска диоба заустављана је у метафази, додавањем цитостатика колцемида. Даљом обрадом материјала добијани су хромозоми, који су анализирани примјеном ГТГ трака.

За прву и рутинску анализу, један препарат обојен је Гимза бојом са фосфатним пуфером рН7,2 (класично бојење), а на осталим препаратима примјењивана је техника за добијање трака на хромозомима (техника ГТГ трака, тј. Г траке-трипсин-Гимза). За ГТГ технику кориштен је 0.025% раствор трипсина.

Анализа кариотипа вршена је на 16–30 митоза, и то на 8 митоза хромозоми су анализирани ГТГ тракама резолуције од 400 до 550 трака, док су на осталим митозама пребројавани и спаривани по групама, на класично обојеном препарату. Кариотип је описиван према Међународном систему номенклатуре у хуманој цитогенетици (ISCN, 2005).

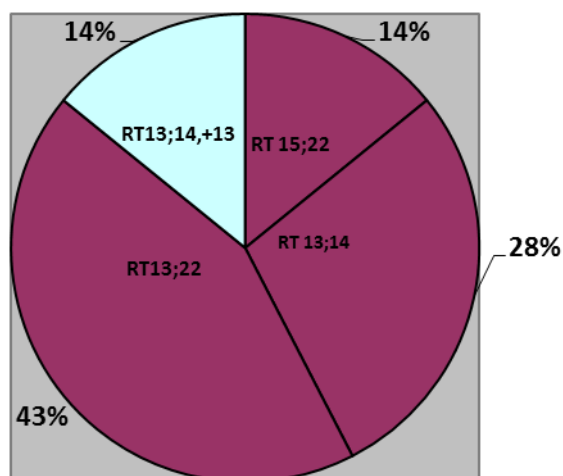
РЕЗУЛТАТИ

На узорцима плодове воде анализираним у Одјељењу за медицинску генетику УКЦ Републике Српске у периоду од седам година детектовано је 7 случајева (0,12%) Робертсонове транслокације. У 6 случајева (0,11%) радило се о балансираном кариотипу, док је у једном случају (0,02%) кариотип био небалансиран. Утврђено је присуство три различите врсте РТ: РТ 13;14, РТ 13;22 и РТ 15;22. Учесталост јављања ових РТ на укупан број анализираних случајева је: РТ 13;14 у три случаја (0,05%), затим РТ 13;22 такође у три случаја (0,05%) и РТ 15;22 у једном случају (0,02%) (Табела 1).

Табела 1. Врсте Робертсонових транслокација откривених пренаталном дијагностиком

ВРСТА РОБЕРТСОНОВЕ ТРАНСЛОКАЦИЈЕ	БРОЈ (%) РТ ОТКРИВЕНИХ У ПРЕНАТАЛНОЈ ДИЈАГНОСТИЦИ
rob 13;14	3 (0,05%)
rob 13;22	3 (0,05%)
rob 15;22	1 (0,02%)

На слици 1 приказано је да је 86% свих случајева са РТ имало балансиран кариотип, а код 14%, РТ је била у склопу небалансираног кариотипа.

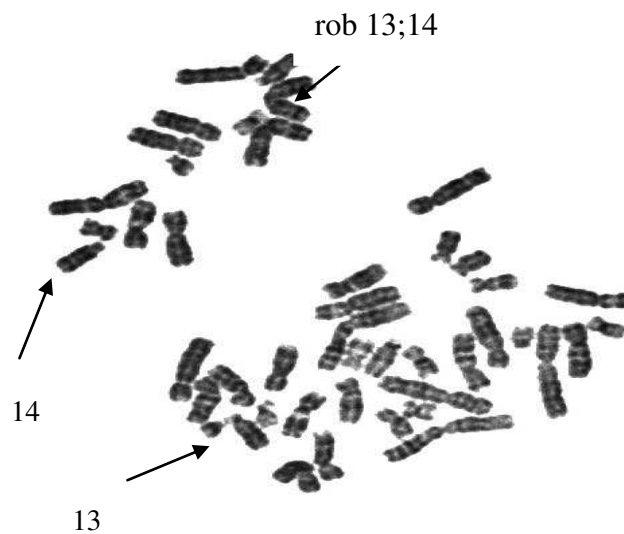


Слика 1. Заступљеност различитих кариотипова плода са РТ

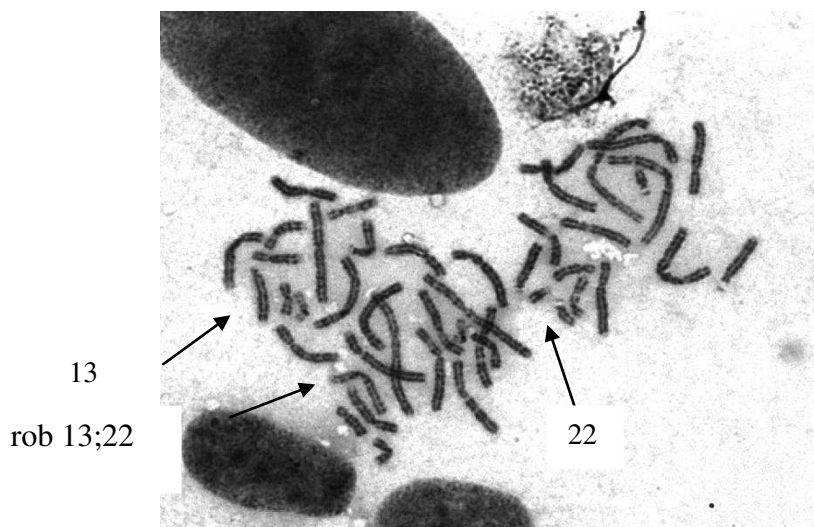
■ балансирани кариотипови са РТ – 86%;

■ небалансирани кариотип са транслокацијским обликом Патауовог синдрома – 14%

Такође, на слици 1 уочава се да су најзаступљеније РТ биле 13;14 (Слика 2) и 13;22 (Слика 3), са заступљеношћу од по 43% и РТ 15;22 са заступљеношћу од 14%.

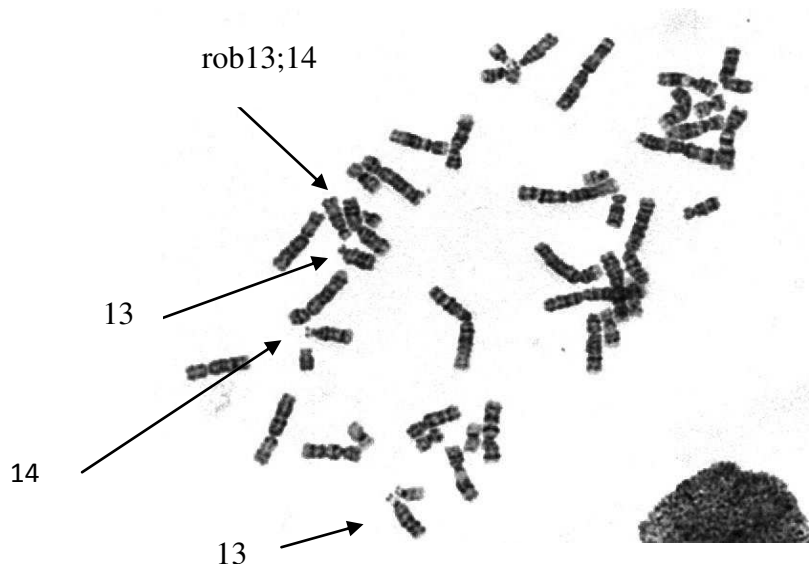


Слика 2. Кариотип 45,XX,rob (13;14)(q10;q10)mat



Слика 3. Кариотип 45,XX,rob (13;22)(q10;q10)

Небалансирани РТ кариотип тј. транслокацијски облик Патауовог синдрома као последица РТ између хромозома 13 и 14 био је присутан у једном случају (0,02%) (Слика 4).



Слика 4. Кариотип 46,XY,rob (13;14)(q10;q10)+13

У пет случајева поријекло откривених РТ у кариотипу плода провјерено је кариотипизацијом родитеља. Утврђено је да су у четири случаја родитељи носиоци РТ, док је РТ између хромозома 15 и 22 настала *de novo*. Код случаја са небалансираним РТ кариотипом, који је представљао транслокацијски облик Патауовог синдрома, као и у једном случају са РТ између хромозома 13 и 22, родитељи се нису одазвали кариотипизацији, тако да у овим случајевима није утврђено поријекло РТ (Табела 2).

Табела 2. Поријекло Робертсонових транслокација

ВРСТА РТ	ПОРИЈЕКЛО			НЕУТВРЂЕНО
	Mat	Pat	<i>de novo</i>	
rob 13;14	1	1		1
rob 13;22	1	1		1
rob 15;22			1	

Индикације за пренаталну дијагностику у случајевима у којима је откривена РТ у пет случајева биле су године труднице, у једном случају биохемијски маркери и у једном случају оптерећена породична анамнеза (Табела 3).

Табела 3. Индикације за пренаталну дијагностику

ИНДИКАЦИЈЕ	КАРИОТИП ПЛОДА
Године труднице	45,XX,rob(13;22)(q10;q10)
Године труднице	45,XX,rob(13;22)(q10;q10)
Године труднице	45,XX,rob(15;22)(q10;q10)
Године труднице; стерилитет	45,XY,rob(13;14)(q10;q10)
Оптерећена породична анамнеза	46,XY,rob(13;14)(q10;q10)+13
Биохемијски маркери	45,XX,rob(13;14)(q10;q10)
Године труднице	45,XX,rob(13;22)(q10;q10)

ДИСКУСИЈА

У популацији Републике Српске Робертсонова транслокација у пренаталној дијагностици јавља се са учесталошћу од 0,12%. У популацији Војводине та учесталост је 0,14% (Кавечан, 2010), док је у популацији Македоније учесталост РТ у пренаталној дијагностици 0,18%, (Василевска и сар., 2013). У табели 4 представљен је упоредни приказ броја узорака, учесталости РТ, поријекла и најзаступљенијих РТ по државама из окружења (Табела 4).

Табела 4. Упоредни приказ броја узорака/период, учесталост РТ, поријекло и најзаступљеније РТ по државама

Држава	Бр. узорака/период	Учесталост РТ	Поријекло	Најзаступљеније РТ
Република Српска (БиХ)	5557/ (2009–2015)	0,12%	mat 28,5% pat 28,5% dn 15% неутврђено 28%	rob(13;14) 43% rob(13;22) 43% rob(15;22) 14%
Војводина (Србија)	17003/ (2002–2012)	0,14%	mat 52,2% pat 34,8% dn 13%	rob(13;14) 56,5% rob(14;21) 13% rob(15;22) 8,7%
Македонија	3800/ (2002–2012)	0,18%	mat 71,4% pat 14,3% dn 14,3%	rob(13;14) 57,1% rob(14;21)+21 28,6%

По подацима из литературе најзаступљенија РТ је између хромозома 13 и 14 и јавља се са учесталошћу 33% (McKinlay Gardner и Sutherland, 2004). У нашем узорку учесталост РТ 13;14 знатно је виша и износи 43%. Међутим, ова учесталост у нашој популацији и даље је мања него у Војводини и Македонији (56–57%).

По истом извору из литературе, транслокације 13;22 и 15;22 спадају у ријетке транслокације. У нашим резултатима учесталост РТ 13;22 изузетно је висока и износи 43%, што је знатно више од очекиване.

Код случаја новонастале РТ 15;22, која је заступљена у нашем узорку са 14%, радило се о близаначкој трудноћи. Пренаталном дијагностиком код једног плода утврђен је уредан кариотип (46,ХУ), док је код другог утврђена РТ 15;22 (45,XX,rob(15;22)(q10;q10)). Након кариотипизације родитеља утврђено је да се ради о *de novo* РТ. На основу доступних резултата може се примијетити да у нашој популацији није детектован ни један случај РТ 14;21, који је у сусједним популацијама присутан у знатном проценту. За нашу популацију карактеристичан је висок проценат РТ 13;22.

Код нас су све откривене транслокације биле хетерологе, док је у Институту за здравствену заштиту деце и омладине Војводине утврђена и једна хомолога 14;14 која је настала *de novo* (Кавечан, 2010).

Приликом откривања РТ у пренаталној дијагностици, препоручује се кариотипизација родитеља у сврху утврђивања поријекла РТ код плода. У случају да се утврди да је неко од родитеља здрави носилац РТ, ради се о наслијеђеној РТ. Уколико се ова промјена не открије код родитеља, РТ је настала *de novo*. У нашем узорку 57% свих РТ наслијеђено је од родитеља, 15% настало је *de novo*, а у 28% нисмо утврдили поријекло. Резултати из популације Војводине и Македоније слични су, те је код њих наслијеђена РТ у 85–87% случајева, а *de novo* се јавља у 13–14%.

Код наслијеђених РТ у нашим резултатима једнака је учесталост насљеђивања од мајке и од оца (28,5%). У војвођанској популацији учесталост насљеђивања од мајке је 52,2%, док је од оца 34,8% (Кавечан, 2010). У популацији Македоније такође је већа учесталост насљеђивања од мајке – 85,7% , док је од оца 14,3% (Василевска и сар., 2013).

Према литератури постоје извјесне разлике у ризицима за настанак небалансираног кариотипа при концепцији, у зависности од тога да ли је носилац РТ мајка или отац. За РТ између хромозома 13 и 14 ризици су једнаки (1%) (Pergament, 2008) (Табела 5). Код РТ 14;21 и 21;22 ризик за настанак небалансираног кариотипа при концепцији знатно је виши у случају да је мајка носилац РТ. Ови подаци од изузетног су значаја приликом давања генетичког савјета паровима код којих је утврђена РТ.

Табела 5. Ризици за настанак небалансираног кариотипа при концепцији у зависности од носиоца транслокације (Pergament, 2008)

Транслокација	Носилац	Минимални ризик за настанак небалансираног кариотипа при концепцији (%)
t 13;14	<i>Pat</i>	1
t 13;14	<i>Mat</i>	1
t 14;21	<i>Pat</i>	1
t 14;21	<i>Mat</i>	11
t 21;22	<i>Pat</i>	5
t 21;22	<i>Mat</i>	10
t 21;21	<i>Pat</i>	100
t 21;21	<i>Mat</i>	100

Индикације за пренаталну дијагностику код балансираних кариотипова у пет случајева биле су године труднице и у једном случају биохемијски маркери, док је у случају небалансираног кариотипа са тризомијом 13, индикација била оптерећена породична анамнеза (у породици постоји особа са Дауновим синдромом – слободна тризомија хромозома 21) (Табела 3). На основу увида у индикације због којих су труднице подвргнуте амниоцентези и пренаталној дијагностици, уочава се да су све РТ у пренаталној дијагностици откривене на основу других индикација. Не постоји индикација која би поуздано корелирала са детекцијом балансираног кариотипа плода са РТ.

Кариотипизација је једина дијагностичка процедура код нас којом се РТ могу детектовати у рутинској клиничкој пракси пренаталне дијагностике.

С обзиром на то да тризомије 14, 15 и 22 нису компатибилне са животом, и да се потенцијалне трудноће у којима је концепцијом остварена нека од ових тризомија завршавају спонтаним побачајем у раној гестацијској доби, небалансиране РТ нисмо детектовали кариотипизацијом плода од 17–19 гестацијске недјеље. Инциденца појављивања небалансираног кариотипа при концепцији вјероватно је већа од детектоване, а да би се поуздано утврдила, неопходно је спровести студију кариотипизације из спонтано побачених плодова.

Носиоци балансиране транслокације најчешће су здраве особе. Проблем се јавља када таква особа уђе у репродуктивни период и одлучи да оствари потомство, с обзиром на то да се транслокација не може „поправити“ и да она чини конститутивни кариотип. РТ које укључују хетерологе хромозоме, могу бити повезане са поновљеним побачајима и мушком неплодношћу (McKinlay и сар., 2004)

Приликом давања генетичког савјета родитељима носиоцима РТ, битно их је информисати о могућим ризицима за настанак побачаја, као и ризицима за рађање аберантног потомства али и о могућности добијања здравог и потомства са балансираним кариотипом. Само оне Робертсонове транслокације које садрже хромозом 21 и 13 повезане су са повећаним ризиком за рађање тризомичног потомства. Тризомија 22 у склопу РТ може представљати ријетку могућност. Процијењени ризик за абнормалности повезане са *de novo* РТ су 3,7%. Међутим, у оваквим случајевима тешко је предвидјети специфичне абнормалности (Gersen и Keagle, 2005). С обзиром на то да је ризик од тризомија већи него у општој популацији, препоручује се свим носиоцима РТ да ураде пренатално тестирање.

ЗАКЉУЧЦИ

- учесталост којом се јављају РТ у нашем узорку је 0,12%
- РТ 13;14 и 13;22 јављају се са највећом учесталošћу од по 43%
- РТ 15; 22 јављају се са учесталošћу од 14%, што је висока учесталост за ову РТ
- у пренаталној дијагностици није откривен ни један случај хомологе РТ
- 15% РТ настало је *de novo*
- РТ се наслеђују са једнаком учесталošћу од мајке и од оца
- кариотипизација је једина дијагностичка процедура код нас, којом се РТ могу детектовати у рутинској клиничкој пракси пренаталне дијагностике
- само оне Робертсонове транслокације које садрже хромозом 21 и 13 повезане су са повећаним ризиком за рађање тризомичног потомства.
- с обзиром на то да је ризик од тризомија већи него у општој популацији, препоручује се свим носиоцима РТ да ураде пренатално тестирање.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gersen L.S , Keagle B.M.: **The Principles of Clinical Cytogenetics**, Second Edition, Humana Press Inc., 2005.
2. Гућ-Шћекић М., Радивојевић Д.: **Приручник из медицинске генетике**, Биолошки факултет Београд, Алтанова Београд, 2009.
3. Кавечан. И.: Хромозомске аберације као узрок спонтаних побачаја и циљаних прекида трудноћа, Докторска дисертација, Нови Сад, 2010.
4. McKinlay Gardner R.J., Sutherland R. G: **Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling**, 3rd Edition, Oxford University Press, 2004.
5. Pergament, E.: Glob. libr. women's med., (ISSN: 1756-2228) 2008; DOI 10.3843/GLOWM.10342, chapter **Cytogenetics**, доступно на www.glowm.com/section_view/heading/Cytogenetics/item/341).
6. Василевска М., Ивановска Е., Кубелка Сабит К., Сукарова-Ангеловсак Е., Димеска Г.: The incidence and type of chromosomal translocations from prenatal diagnosis of 3800 patients in the Republic of Macedonia, *BJMG 16 (2)*, 2013.

Примљено: 18.01.2016.

Одобрено: 18.05.2017.