

## CITOGENETIKA

Citogenetika je znanost koja proučava morfologiju i ponašanje kromosoma tijekom mitoze i mejoze te nastoji povezati kromosomske nalaze s principima opće genetike. Iako su se kromosomi promatrali već potkraj 19. stoljeća, tek 1956. godine Tjio i Levan dokazuju da se ukupno u stanicama čovjeka nalazi 46 kromosoma. Vrlo brzo nakon ovog otkrića Ford i Hamerton utvrđuju 23 kromosoma u spermatoцитama čovjeka. Sve veći interes za citogene-tiku doveo je do potrebe za standardizacijom nomenklature iz tog područja. Konferencija održana u Denveru 1960. godine dala je prve smjernice. Te godine sistematizira se i uvodi pojam kariotipa čovjeka, što predstavlja kromosomski komplement jedne osobe. Pojam kariotip se razlikuje od pojma kariogram, koji opisuje kromosomsku sliku jedne stanice, odnosno, stanične linije. Kariogram ne mora uvijek odgovarati kariotipu, kao što je to slučaj u mozaičnih kariotipova (dva ili više kariograma čine kariotip). Svaka somatska stanica čovjeka ima 46 kromosoma, odnosno 22 homologna para autosoma i jedan par gonosoma (spolni par kromosoma). Spolni par kromosoma različit je u žena i muškaraca. U žena su oba spolna kromosoma oblikom jednaka (XX), a u muškarca su različita (XY).

## ABERACIJE KROMOSOMA

### 1.1. NUMERIČKE ABERACIJE KROMOSOMA

Svako odstupanje od normalnog broja kromosoma (euploidija) za određenu vrstu predstavlja numeričku ili brojčanu aberaciju kromosoma. Normalan broj kromosoma u tjelesnim (somatskim) stanicama čovjeka je 46 (diploidan broj -  $2n$ ), a 23 (haploidan broj -  $n$ ) u spolnim stanicama (gamete).

Poliploidija je numerička kromosomska aberacija karakterizirana povećanjem broja haploidne kromosomske garniture ( $3n$ ,  $4n$ ,  $5n$  itd.). Tipovi poliploidije su triploidija ( $3n = 69$ ), tetraploidija ( $4n = 92$ ), pentaploidija ( $5n = 115$ ), itd.

Aneuploidija je numerička kromosomska aberacija koju karakterizira promjena broja kromosoma unutar para kromosoma. Razlikujemo polisomiju i monosomiju. Postojanje 3, 4 ili 5 homolognih kromosoma predstavlja trisomiju, tetrasomiju ili pentasomiju kao tip polisomije. Monosomija je vrsta aneuploidije kada umjesto dva homologna kromosoma postoji samo jedan. Svaka aneuploidija

mijenja i ukupan broj kromosoma, pa uz monosomiju nalazimo 45, uz trisomiju 47, a uz tetrasomiju 48 kromosoma u kariotipu.

Promjena broja kromosoma ima uvijek za posljedicu i promjenu fenotipa nositelja. Većina otkrivenih i opisanih kromosomopatija ima određene karakteristike kojima se razlikuje jedna od druge. Ipak u gotovo svih kromosomopatija nalaze se jače ili slabije zastupljene ove fenotipske promjene: - mentalna i/ili somatska retardacija - malformacije, odnosno dismorfije lica, šake i stopala - malformacije unutarnjih organa, osobito srca, bubrega, mozga i crijeva - abnormalnosti vanjskog spolovila - patološki dermatoglifi Najčešće aneuploidije, kao i poliploidije karakteriziraju udruženi specifični simptomi koji se nazivaju sindromima.

1. Sindrom Down - trisomija 21 (47,XX,+21 ili 47,XY,+21) Kliničku sliku Downovog sindroma (DS) je opisao Lagdon Down 1866. god., a Lejeune je 1957. god. otkrio trisomiju 21 kao genetski uzrok. To je najčešća aneuploidija i javlja se s učestalošću od 1 : 770 novorođenčadi, nešto češće u dječaka negoli u djevojčica (3 : 2). Karakterizira ga mentalna zaostalost, a pritom stupanj zaostalosti može varirati. Postoji znatno intrauterino i postnatalno zaostajanje u tjelesnom razvoju i rastu. Glava je smanjena opsega, a zatiljak plosnat. Oči su koso, "mongoloidno" postavljene, široko razmaknute (hipertelorizam), na medijalnom očnom kutu postoji nabor kože (epikantus), a uz obod šarenice bijele, Brushfieldove pjegice. Nos je malen, široka korijena. Usta su malena, pa normalno velik jezik često viri iz usne šupljine. U dobi od 5 do 6 godina jezik postaje naglašeno izbrazdan (lingua scrotalis). Uške su gotovo uvijek loše formirane, malene i nisko postavljene. Zubi su nepravilna oblika i broja, te kasno izbijaju. Šake su široke i kratke s kratkim prstima, a česta je klinodaktilija (nagnutost 5. prsta u radijalnom smjeru). Na dlanovima može postojati brazda četiriju prstiju (majmunaska brazda) uz izmijenjene dermatoglife. Muskulatura je upadljivo hipotonična, a zglobovi hiperfleksibilni. Otprilike 40% djece s Downovim sindromom ima prirođenu srčanu manu, najčešće defekte septuma. Česte su stenoze i atrezije probavnog trakta, te smanjena otpornost prema infekcijama. Život je, u prosjeku, smanjen na polovicu u odnosu prema zdravoj populaciji, a u velikoj mjeri ovisi o postojanju malformacija vitalnih organa i životnih uvjeta. U prepenicilinskoj eri trajanje života osoba s Downovim sindromom bilo je znatno kraće zbog sklonosti prema infekcijama. Djeca nikad ne dosegnu mentalne sposobnosti zdrave djece (kvocijent inteligencije u 15. godini iznosi samo 40 - 50), a osobito im nedostaje sposobnost apstraktnog mišljenja. Većina djece nije sposobna za školovanje i ostaje socijalno ovisna čitavog života.

2. Sindrom Patau - trisomija 13 (47,XX,+13 ili 47,XY,+13) Patauov sindrom (Patau sa suradnicima 1960.god.) je poslije Downova sindroma jedna od češćih trisomija autosoma (1 : 5000 novorođenčadi) klinički karakteriziran vrlo teškim malformacijama mozga (arinencefalija), očiju (mikroftalmija ili anoftalmija), rascjepima usne, čeljusti i nepca (heliognatopalatoshiza), polidaktilijom te anomalijama srca (defekti septuma), bubrega (cistični bubrezi, potkovasti bubrezi) i probavnog trakta (malrotacije crijeva). Životna prognoza je

loša i većina djece umire u prvim mjesecima života.

3. Sindrom Edwards - trisomija 18 (47,XX,+18 ili 47,XY,+18) Prvog bolesnika s trisomijom 18 opisao je Edwards godine 1960. Učestalost Edwardsova sindroma iznosi 1 : 50008000 novorođenčadi, a u djevojčica je taj sindrom češći negoli u dječaka (4:1). Glavna su obilježja: intrauterina distrofija (hidramnion, mala posteljica, mala porođajna težina), kraniofacijalna dismorfija (mikrocefalija ili hidrocefalija, izrazita dolichocefalija, mikroftalmija, loše formirane uške, malen i uzak nos, malena mandibula, visoko nepce), kratak sternum, anomalije srca, bubrega i probavnog trakta. Postoje i karakteristične fleksijske kontraktуре prstiju (2. prst preko 3., a 5. preko 4.), što je vrlo izraženo u prvim tjednima života. Prognoza je također loša, i većina djece umire tijekom prve godine života. Djeca koja žive duže obično imaju manje izražene anomalije organa, ali imaju naglašenu mentalnu zaostalost.

4. Sindrom Klinefelter (47,XXY ili 48,XXXY) Klinefelterov sindrom je bio klinički prepoznat i prije otkrića njegova genetičkog uzroka (Klinefelter sa suradnicima, godine 1942.). Glavni su simptomi: relativno visok rast, atrofija testisa s oskudnom ili odsutnom spermatogenezom uz očuvane Lydigove stanice, sterilitet, ginekomastija i katkad mentalna zaostalost. Budući da u pravilu nije klinički prepoznatljiv prije puberteta, sindrom se najčešće otkriva u muškaraca koji se liječe od neplodnosti, a u većini slučajeva vode normalan život. Učestalost Klinefelterova sindroma iznosi 1 : 1000 muške novorođenčadi.

5. Dvostruki "Y" sindrom ( 47,XYY) Dvostruki-Y sindrom nije fenotipski jasno definiran pa predstavlja uglavnom citogenetički pojam. Javlja se u 1 : 1000 muške novorođenčadi, koja se većinom ne razlikuju od djece s normalnim muškim kariotipom. Uz pojačani rast tijekom puberteta zapažaju se psihičke smetnje u društvenom prilagođavanju i sklonost agresivnom ponašanju te mogući infertilitet. Još je nerazjašnjeno jesu li takve osobe genetski sklone prijestupništvu. Odgovor na to osjetljivo pitanje može imati značajne društvene, moralne i etičke posljedice.

6. Triplo "X" sindrom ( 47,XXX) Žene s triplo-X sindromom se fenotipski ne razlikuju od žena s normalnim kariotipom, klinički su zdrave i uglavnom fertile. Manji broj takvih žena ima primarnu ili sekundarnu amenoreju, a neke imaju emotivne teškoće u društvenom prilagođavanju i blažu mentalnu zaostalost. Njihova djeca imaju najčešće normalan kariotip. Taj se sindrom otkriva najčešće slučajno, s učestalošću od 0,8 - 1 : 1000 ženske novorođenčadi.

7. Tetra "X" sindrom (48,XXXX) Tetra-X sindrom je polisomija koju karakterizira jaka mentalna zaostalost, s kvocijentom inteligencije ispod 50% od uobičajene za odgovarajuću dob. Trajanje života nije poremećeno. Postoji mikrocefalija, ovalno lice, hipertelorizam, epikantus, strabizam i kratki prsti s klinodaktilijom 5. prsta. Pubertet s menarhama ne razlikuje se od onoga u normalnih osoba.

8. Sindrom Turner - monosomija X ( 45,X) Turnerov sindrom je također klinički prepoznat znatno ranije od otkrića njegova genetskog uzroka (Turner, 1932.god.), a predstavlja gotovo jedini primjer monosomije spojive s gotovo normalnim trajanjem života. Učestalost iznosi 1: 2500 ženske novorođenčadi, a pretpostavlja se da se tek 1 : 40 djece s Turnerovim sindromom rađa, dok preostali bivaju spontano pobačeni u prvim mjesecima trudnoće. Prepoznatljivi simptomi su malena težina i dužina pri porođaju, a na licu postoji mikrognatija, epikantus, ptoza jednog ili oba gornja očna kapka, uz loše formirane i nisko postavljene uške. Vrat je kratak uz kožne nabore na lateralnoj strani, koji se protežu od uha do ramena (pterigij). Kosa završava na vratu nisko s ravnom linijom, koža je često bogata pigmentiranim nevusima. Na šakama i stopalima novorođenčadi vide se pseudolimfatički edemi, zglobovi su hiperelastični, a postoji izraziti cubitus valgus. Mogu postojati anomalije srca

(20%) i anomalije bubrega (40-60%). Odrasle osobe dosegnu visinu od približno 150 cm, uz primarnu amenoreju, sterilnost i izostanak sekundarnih spolnih oznaka. Umjesto ovarija postoje samo fibrozni tračci, a stanica zametnog epitela nema. Psihički je razvoj normalan u većine, a u manje od 20% djece javlja se mentalna zaostalost. Životna prognoza djeteta s Turnerovim sindromom ovisi o postojanju i težini anomalija srca i bubrega, a rast u visinu i fertilitet ne mogu se popraviti. Nasuprot tome, supstitucijskom cikličkom terapijom estrogenima i progesteronom u doba inače očekivanog puberteta, može se izazvati pojava sekundarnih spolnih oznaka, te izbjeći pojava psihičkih smetnji i rana osteoporoza.

9. Triploidija ( 69,XXX ili 69,XXY ili 69,XYY) Triploidija se u humanoj genetici susreće uglavnom prilikom citogenetičke analize spontano pobačenih plodova. U 80% triploidija dodatna haploidna garnitura kromosoma očeva je podrijetla i dovodi do razvoja parcijalne mole hidatidoze, vrste patološke trudnoće gdje su prisutne hidatidiformne promjene placente. Interesantno je spomenuti da u slučaju viška majčine haploidne garniture kromosoma ne dolazi do takve promjene placente. Ovaj fenomen razlike u ekspresiji gena, odnosno kromosoma s obzirom na njegovo roditeljsko podrijetlo naziva se genomic imprinting. Iznimno rijetko dolazi do rađanja djece s triploidnim kariotipom. No, budući da su simptomi dosad opisanih slučajeva prilično karakteristični, može se govoriti o sindromu triploidije. Karakterističan izgled lica udružen je s arinencefalijom, heliognatopalatoshizom, očnim kolobomima, sindaktilijom 3. i 4. prsta te mnogobrojnim anomalijama unutaršnjih organa, a često je promijenjena i placenta. Vitalnost je vrlo slaba, tako da uglavnom umiru na porođaju ili nakon nekoliko dana.

10. Tetraploidija ( 92,XXYY) Tetraploidija je među živorođenom djecom opisana u samo nekoliko slučajeva, od kojih su sva djeca umrla odmah nakon rođenja. Karakteristična je mikrocefalija, dismorfija lica, malformacije ekstremiteta, te anomalije urinarnog trakta i mozga.

11. Uniparentna disomija Uniparentna disomija je posebna vrsta mutacije koju karakterizira prisutnost homolognih kromosoma istog roditeljskog podrijetla u diploidnom kariotipu. Ova

promjena može, i ne mora, izazvati promjene na fenotipu, a to ovisi o, već spomenutom, fenomenu genomic imprintinga. Uniparentna disomija može nastati kao posljedica oplodnje dviju aneuploidnih gameta (jedna disomična i druga nulisomična s obzirom na isti kromosom) ili, što je češće slučaj, kao posljedica gubitka (anafazno zaostajanje) kromosoma vrlo rano u embrionalno doba u slučaju trisomične zigote. Nerazdvajanje kromosoma u I. mejotičkoj diobi dovodi do heterodisomije, dok nerazdvajanje u II. mejotičkoj diobi stvara izodisomiju.

### **UZROCI NUMERIČKIH ABERACIJA KROMOSOMA**

Promjene broja kromosoma posljedica su kromosomskog nerazdvajanja koje se može dogoditi tijekom mejoze ili mitoze. Kromosomsko nerazdvajanje tijekom mejoze označavamo primarnim ako je zametna stanica euploidna. Sekundarnonerazdvajanje se događa ako je zametna stanica već aneuploidna. Nerazdvajanje kromosoma može se dogoditi u prvoj ili drugoj mejotičkoj diobi tijekom oogeneze ili spermatogeneze, stvarajući time aneuploidne gamete. Mitotičko nerazdvajanje događa se u ranoj postzigotičkoj fazi, a može se dogoditi i u prvoj diobi zigote. Takvim nerazdvajanjem nastaje više staničnih linija s različitim brojem kromosoma. Te stanične linije mogu biti sve aneuploidne ili predstavljati kombinaciju euploidnih i aneuploidnih linija, ovisno o tome da li se nerazdvajanje dogodilo tijekom prve diobe zigote ili tijekom kasnijih dioba stanica zametka. Novonastale aneuploidne stanice nastavit će se dalje dijeliti stvarajući tkiva s promijenjenim brojem kromosoma. Pojavu stanica u organizmu s različitim brojem kromosoma nazivamo mozaicizmom ili miksploidijom. Takav tip miksploidije naziva se razvojna miksploidija. Proliferativna miksploidija javlja se kasnije tijekom života i vezana je uz procese starenja i stvaranja neoplastičnih tvorbi. Miksploidija je češće vezana uz gonosome.

Jedan od mehanizama nastanka aneuploidije je i anafazno zaostajanje, pri čemu pojedini kromosom tijekom anafaznog razdvajanja zaostane i ne doputuje s ostalim kromosomima na pol diobenog vretena. Time ne biva uključen u novu jezgru, što također rezultira brojčanom aberacijom kromosoma. Za nastanak poliploidije u čovjeka mogući su razni mehanizmi: mogućnost spajanja nereduciranih gameta žene ili muškarca, polispermija, supresija prvog ili drugog polarnog tijela u oogenezi ili supresija zigote u kojoj se nakon kariokineze nije dogodila citokineza. Iz eksperimenata na životinjama svi se navedeni mehanizmi čine prihvatljivima.

## 1.2. STRUKTURNE ABERACIJE KROMOSOMA

Strukturne aberacije kromosoma su mutacije uzrokovane lomovima i spajanjem odlomljenih krajeva. Odlomljeni dijelovi mogu promijeniti položaj na kromosomu, biti premješteni na neki drugi kromosom, zaokrenuti se unutar kromosoma ili se izgubiti tijekom stanične diobe. Ova vrsta aberacije može biti balansirana inebalansirana, ovisno o tome postoji li višak ili manjak genetičkog materijala. Balansirane strukturne aberacije obično ne uzrokuju promjene fenotipa. Mogu nastati de novo (svježa mutacija) ili biti naslijeđene od roditelja. Dijelimo ih naintrakromosomske, u kojih je došlo do premještanja kromosomskih segmenata unutar jednog kromosoma, i interkromosomske, u kojih postoji izmjena segmenata između dva ili više kromosoma.

### 1.2.3. INTRAKROMOSOMSKE STRUKTURNE ABERACIJE

Delecije (del) predstavljaju gubitak kromosomskog segmenta. Izgubiti se može terminalni ili središnji dio kraka kromosoma (terminalna i intersticijska delecija). Uzrokuju parcijalnu monosomiju deletiranih lokusa. U slučaju terminalne delecije obaju krakova spajaju se slomljeni krajevi i oblikuje se prstenasti ili ring (r) kromosom, koji ima centromeru. Različite terminalne delecije opisane su u čovjeka i predstavljaju klinički prepoznatljive sindrome. Primjer kariotipa: 46,XY,del(4)(p15) - Wolfov sindrom.

Inverzije (inv) su vrsta balansiranih strukturnih aberacija, uzrokovanih dvostrukim lomom. Fragment između točaka loma okrene se za  $180^\circ$  i ponovno ugradi u kromosom. Inverziju obično ne prate fenotipske promjene, no ukoliko se radi o mutacijama de novo, može doći do promjene fenotipa. Nositelje inverzija najčešće otkrivamo kariotipizacijom zbog poremećaja reprodukcije: spontanih pobačaja ili rođenja abnormalnog djeteta. Ako invertirani dio kromosoma obuhvaća centromeru, inverzija je pericentrična, a ako zahvaća dio samo jednog kraka kromosoma, inverzija je paracentrična. Pericentrična inverzija mijenja oblik kromosoma, dok u paracentričnoj inverziji oblik kromosoma ostaje nepromijenjen. Inverzija ometa normalnu konjugaciju homolognih kromosoma tijekom gametogeneze te uzrokuje stvaranje inverzijske petlje.

Izokromosom (i) je tip strukturne aberacije koja nastaje poprečnom diobom centromere. Time nastaje metacentrični kromosom s genetičkim materijalom dvaju p krakova ili češće dvaju q krakova. Posljedica izokromosoma su parcijalna monosomija i parcijalna trisomija jednog kromosomskog kraka. Izokromosom je često opisan na kromosomu X, a osoba s izokromosomom i(Xq) predstavlja prepoznatljiv Turnerov sindrom. Primjer kariotipa: 46,X,i(Xq)

### 1.2.4. INTERKROMOSOMSKE STRUKTURNE ABERACIJE

Najčešći tip interkromosomskih aberacija su translokacije koje nastaju kao posljedica prebačaja genetičkog materijala jednog homolognog kromosoma na drugi ili izmjene kromosomskih fragmenata između dva i više heterologa. Razlikujemo recipročne i Robertsonove translokacije. Robertsonova translokacija ili centrična fuzija događa se samo između akrocentričnih kromosoma, i to između homologa ili heterologa. Nakon lomova koji nastaju u centromeri ili blizu centromere dolazi do spajanja q krakova akrocentričnih kromosoma, dok se p kraci gube. Gubitak p krakova kompenzira se genima s drugih p krakova akrocentričnih kromosoma te je stoga ova vrsta translokacija balansirana

abercija i uglavnom nema fenotipskih posljedica za nositelja. Ukoliko ova aberacija nastane kao svježā, u 3% slučajeva može se javiti neka veća kongenitalna promjena.

Primjer kariotipa: 45,XX,der(13;21)(q10;q10) - mirni nositelj Robertsonove translokacije

Recipročne translokacije predstavljaju prebačaj odlomljenih kromosomskih fragmenata između dva ili više kromosoma. Ova vrsta translokacije može biti intersticijska ili terminalna.

Primjer kariotipa: 46,XX,t(2;5)(q21;q31) - mirni nositelj recipročne translokacije

Osobe koje su nositelji Robertsonove ili recipročne translokacija mogu pored nebalansiranih gameta stvarati i balansirane gamete te tako imati i zdravu djecu. Stoga se tim osobama preporuča prenatalna dijagnostika (npr. amniocenteza). Na žalost, nositelji translokacija otkrivaju se tek nakon više spontanih pobačaja ili rođenja malformiranog djeteta.

*Pripremila: Prof.dr.sc. Bojana Brajenović Milić*