

ALEKSANDRA GINTOWT-CHAKOUR¹, KATARZYNA SZALECKA², ALINA KUŹNIACKA^{2,3},
HALINA ŻUKOWSKA², EWA KUZIEMSKA^{2,3}, MAŁGORZATA ZDZITOWIECKA³,
IWONA KARDAS^{2,3}, MARIOLA ILISZKO^{2,3}, JANUSZ LIMON^{2,3},
BEATA S. LIPSKA-ZIĘTKIEWICZ¹

ANALIZA KARIOTYPÓW 5 210 PACJENTÓW Z WYWIADEM OBCIĄŻONYM NIEPOWODZENIAMI ROZRODU

KARYOTYPE ANALYSIS IN 5 210 INDIVIDUALS WITH A HISTORY OF REPRODUCTIVE FAILURE

¹Pracownia Genetyki Klinicznej, Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej Gdańskiego
Uniwersytetu Medycznego

kierownik: dr hab. med. Beata S. Lipska-Ziętkiewicz

²Laboratorium Genetyki Klinicznej, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne w Gdańsku

kierownik: prof. dr hab. n. med. Janusz Limon

³Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

kierownik: dr hab. med. Bartosz Wasąg

Celem pracy jest analiza kariotypów 5 210 pacjentów z wywiadem obciążonym niepowodzeniami rozrodu. W analizowanym okresie ogólna liczba wykonywanych badań cytogenetycznych wzrosła ponad dwukrotnie. Odsetek badań kariotypu przeprowadzanych z powodu niepowodzeń rozrodu w roku 2016 wyniósł 30% całkowitej liczby badań. W przebadanej grupie pacjentów aberracje chromosomowe występowały z częstością 6,72% na parę. Częstość występowania aberracji chromosomowych w podgrupie pacjentów z wywiadem obciążonym wadami wrodzonymi u dziecka lub płodu (w tym pacjentów skierowanych na badanie z powodu zarówno wad, jak i samoistnych utrat ciąży) ponad 3,5-krotnie przewyższała częstość występowania aberracji stwierdzoną w grupie pacjentów skierowanych na badanie wyłącznie z powodu samoistnych utrat ciąży.

WSTĘP

Niepowodzenia rozrodu pod postacią co najmniej dwóch samoistnych utrat ciąży, urodzenia się dziecka z wadami lub stwierdzenia wad wrodzonych u płodu oraz nieplodności stanowią najczęstsze wskazanie do badania kariotypu u dorosłych pacjentów poradni genetycznych. Najczęściej stwierdzanym typem aberracji chromosomowych skutkujących niepowodzeniami rozrodu są translokacje zrównoważone, w tym translokacje wzajemne i robertsonowskie. W rzadszych przypadkach stwierdza się obecność innych aberracji strukturalnych chromosomów, takich jak: inwersje i deleccje, oraz aber-

racji liczbowych dotyczących chromosomów płci lub związanych z obecnością chromosomu markerowego [2, 5, 11, 13, 18, 21].

W przypadku nosicielstwa translokacji zrównoważonych nieprawidłowa segregacja chromosomów mejozycznych może skutkować niezrównoważeniem kariotypu płodu, co prowadzi do utraty ciąży lub wystąpienia wad wrodzonych u dziecka. Efekt niezrównoważenia kariotypu, w tym charakter wad wrodzonych, zależy od rodzaju i wielkości ubytku lub nadatku materiału genetycznego, jak również genów umiejscowionych w obrębie niezrównoważenia genomu oraz w punktach złamania translokacji, których funkcja zostaje zaburzona [2, 18].

CEL PRACY

Celem pracy jest analiza częstości występowania oraz charakteru aberracji chromosomowych stwierdzonych w badaniach cytogenetycznych grupy 5 210 pacjentów skierowanych na badania cytogenetyczne z powodu niepowodzeń rozrodu.

MATERIAŁ I METODY

Analizowany materiał stanowi grupa 5 210 pacjentów z wywiadem obciążonym niepowodzeniami rozrodu, u których przeprowadzono badania cytogenetyczne w latach 1990-2017. Grupa ta obejmuje 2 520 par małżeńskich oraz 133 kobiety i 37 mężczyzn zbadanych bez partnera. Niniejszy artykuł stanowi kontynuację analizy 3 616 pacjentów przebadanych w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w okresie od stycznia 1990 roku do końca maja 2010 roku, której wyniki opublikowano w latach 2003 i 2010 [17, 20]. Materiał ten poszerzono o wyniki badań 1 594 pacjentów skierowanych na badania cytogenetyczne pomiędzy czerwcem 2010 roku a końcem kwietnia 2017 roku, w większości stanowiących pacjentów Poradni Genetycznej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego (UCK) w Gdańsku, badanych w ramach pracy Laboratorium Genetyki Klinicznej UCK.

Na podstawie rodzaju wskazania do badania kariotypu wśród pacjentów wyodrębniono trzy grupy. Podstawę kwalifikacji pacjenta do grupy I, liczącej 3 271 pacjentów, stanowiło wystąpienie co najmniej dwóch samoistnych utrat ciąży. Grupa ta obejmuje zarówno przypadki poronień (definiowanych jako utrata ciąży do końca 22 tygodnia), jak również przypadki obumarcia ciąży po 22 tygodniu. W obrębie grupy I wyróżniono dwie podgrupy: pacjentów obciążonych 2 utratami (2 394 osoby) oraz pacjentów z 3 lub większą liczbą utrat (877 osób). Do grupy II zakwalifikowano 1 108 pacjentów skierowanych na badanie z powodu stwierdzenia wad wrodzonych u co najmniej jednego dziecka lub rozpoznanych w badaniach prenatalnych płodu w poprzednich ciążach pacjentki lub partnerki badanego pacjenta, w tym przypadki, w których u dziecka lub płodu stwierdzono niezrównoważenie kariotypu. W grupie tej wyodrębniono podgrupę 323 pacjentów, u których dodatkowe wskazanie do badania stanowiło wystąpienie samoistnych utrat ciąży. Grupę III stanowiło 831 pacjentów z klinicznym rozpoznaniem niepłodności definiowanej jako niemożność osiągnięcia ciąży po co najmniej 12 miesiącach regularnego współżycia seksualnego bez zabezpieczenia. W grupie tej u 285 osób (5,47% pacjentów z niepowodzeniami rozrodu) badanie kariotypu przeprowadzono przed planowaną procedurą zapłodnienia pozaustrojowego (*in vitro*). Podział pacjentów na grupy wraz z liczebnością grup przedstawiono w Tabeli I.

Materiał wykorzystany do analizy cytogenetycznej pacjentów badanych w okresie czerwiec 2010 – kwiecień 2017 stanowiły chromosomy metafazowe uzyskane z 72-godzinnej hodowli limfocytów krwi obwodowej. W badaniach wykorzystano prążkową technikę barwienia chromosomów WTG (*wright banding technique*), w uzasadnionych przypadkach poszerzoną o technikę CBG (*centromeric ban-*

Tabela I. Podział pacjentów pod względem wskazań do wykonania badania cytogenetycznego za okres styczeń 1990-kwiecień 2017

Table I. Patients divided according to indication for cytogenetic analysis for the period January 1990-April 2017

Wskazanie do badania cytogenetycznego <i>Indication for cytogenetic analysis</i>		Liczba pacjentów (%) <i>Number of patients (%)</i>
Grupa I <i>Group I</i>	2 utraty ciąży <i>2 pregnancy losses</i>	2 394 (45,95)
	3 i więcej utrat ciąży <i>3 and more pregnancy losses</i>	877 (16,83)
	Łącznie <i>Total</i>	3 271 (62,8)
Grupa II <i>Group II</i>	Wady wrodzone u dziecka <i>Child with congenital malformations</i>	785 (15,1)
	Wady wrodzone u dziecka i utraty ciąży <i>Child with congenital malformations and the history of pregnancy loss</i>	323 (6,2)
	Łącznie <i>Total</i>	1 108 (21,26)
Grupa III <i>Group III</i>	Niepłodność <i>Infertility</i>	831 (15,95)
Ogółem <i>Altogether</i>		5 210 (100)

ding). Stosowaną we wcześniejszych latach technikę AgNOR, pozwalającą na uwidocznienie wzorów prążkowych oraz określenie wariantów polimorficznych heterochromatyny, zastąpiono fluorescencyjną hybrydyzacją *in situ* (FISH NOR). Technikę FISH wykorzystano w przypadkach wymagających zastosowania sond molekularnych, takich jak: badania w kierunku mikrodelekcji (rodzice dzieci ze zespołami DiGeorge'a, Pradera-Williego i Angelmana), obecności chromosomu Y oraz regionu SRY, a także w celu określenia charakteru chromosomów markerowych. W przypadku każdego pacjenta przeanalizowano co najmniej 11 płytek metafazowych. Do analizy i udokumentowania wyników na wydrukach wykorzystano programy komputerowe CytoVision i MetaSystems.

WYNIKI

W grupie 5 210 pacjentów obciążonych niepowodzeniami rozrodu identyfikowano 175 aberracji chromosomowych, w tym 47 zmian rozpoznanych w okresie od czerwca 2010 do kwietnia 2017 roku. Liczby te nie uwzględniają powszechnie występującej inwersji perycentrycznej chromosomu 9, nieskutkującej konsekwencjami klinicznymi. W grupie nosicieli aberracji znalazło się 110 kobiet i 65 mężczyzn. Wśród stwierdzonych zmian zidentyfikowano zarówno aberracje strukturalne, jak też liczbowe, które w badanej grupie dotyczyły chromosomów płciowych oraz obecności chromosomów markerowych. Częstość występowania aberracji wyniosła 6,72% na parę, przy czym aberracje strukturalne występowały około 15 razy częściej niż aberracje liczbowe. Częstości występowania obu typów aberracji w poszczególnych grupach pacjentów przedstawiono w Tabeli II.

Najczęstszy typ aberracji stanowiły translokacje wzajemne (99 przypadków), następnie translokacje robertsonowskie (34 przypadki). Pozostałe zmiany strukturalne chromosomów obejmowały inwersje, dwie duplikacje i insercję w obrębie chromosomu 9, pojedyncze delekcje w ramionach q chromosomów X i Y oraz w chromosomach 12 i 17, a także pojedyncze przypadki obecności łamliwego chromosomu 7 i chromosomu dicentrycznego. Stwierdzone inwersje dotyczyły chromosomów 2, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 16, 17 i 19. Chromosomami najczęściej zaangażowanymi w aberracje były chromosomy

Tabela II. Częstość występowania aberracji chromosomowych w poszczególnych grupach pacjentów (liczone na parę) za okres styczeń 1990-kwiecień 2017

Table II. Frequency of chromosomal aberrations in the analyzed groups of patients (calculated per couple) for the period January 1990-April 2017

Wskazanie do badania cytogenetycznego <i>Indication for cytogenetic analysis</i>		Liczba pacjentów <i>Number of patients</i>	Liczba aberracji chromosomowych (% na parę) <i>Number of chromosomal aberrations (% per couple)</i>		
			Aberracje strukturalne	Aberracje liczbowe	Łącznie <i>Total</i>
Grupa I <i>Group I</i>	2 utraty ciąży <i>2 pregnancy losses</i>	2 394	48 (4,01)	2 (0,17)	50 (4,18)
	3 i więcej utrat ciąży <i>3 and more pregnancy losses</i>	877	21 (4,79)	-	21 (4,79)
	Łącznie <i>Total</i>	3 271	69 (4,22)	2 (0,12)	71 (4,34)
Grupa II <i>Group II</i>	Wady wrodzone u dziecka <i>Child with congenital malformations</i>	785	82 (20,89)	-	82 (20,89)
	Wady wrodzone u dziecka i utraty ciąży <i>Child with congenital malformations and the history of pregnancy loss</i>	323	4 (2,48)	-	4 (2,48)
	Łącznie <i>Total</i>	1 108	86 (15,52)	-	86 (15,52)
Grupa III <i>Group III</i>	Niepłodność <i>Infertility</i>	831	9 (2,17)	9 (2,17)	17 (4,09)
Ogółem <i>Altogether</i>		5 210	164 (6,30)	11 (0,42)	175 (6,72)

14, 13, 21, 1, 8, 3, 15, 5 i 4, przy czym chromosomy 13, 14, 15 i 21 zaangażowane były przede wszystkim w translokacje robertsonowskie, wśród których najczęściej występowała translokacja t(13;14). W dalszej kolejności pod względem częstości zaangażowania w aberracje pojawiały się chromosomy 2 i 9 oraz 6 i 7. Najrzadziej stwierdzano aberracje z zaangażowaniem chromosomów 19 i 20. Najwyższą częstość występowania aberracji strukturalnych stwierdzono w grupie drugiej (15,52% na parę). Dla grup I i III częstości wartości te wyniosła kolejno 4,22% oraz 2,17% na parę.

Aberracje liczbowe stwierdzono u 13 pacjentów należących do grup I i III. W większości dotyczyły one nieprawidłowej liczby chromosomów płciowych. W badanej grupie zidentyfikowano siedem przypadków zespołu Klinefeltera z kariotypem 47,XXY (w jednym przypadku dodatkowo ze współistnieniem nieznaczącej klinicznie inwersji perycentrycznej chromosomu 9), trzy przypadki mozaikowej postaci zespołu Turnera z kariotypem mos 45,X/46,XX oraz po jednym przypadku trisomii chromosomu X z kariotypem 47,XXX, mozaikowego kariotypu mos 45,X/47,XXX/46,XX oraz kariotypu mozaikowego mos 46,X,-Y,+mar/45,X z obecnością chromosomu markerowego pochodzącego z chromosomu Y. Obecność chromosomów markerowych stwierdzono w czterech przypadkach. Inwersję chromosomu 9: inv9(p12q13), niemającą konsekwencji klinicznych, rozpoznano u 67 pacjentów, co stanowi 2,57% na parę. W tabelach IV, V i VI przedstawiono zapis kariotypów nosicieli aberracji badanych w okresie od czerwca 2010 roku do końca kwietnia 2017 roku. Tabele IV i V, obejmujące pacjentów z grup I i II, stanowią kontynuację tabel przedstawionych w publikacjach z lat 2003 i 2010 [17, 20].

Tabela III. Rodzaje i częstości aberracji chromosomowych w grupie 5 210 pacjentów za okres styczeń 1990-kwiecień 2017

Table III. Types and frequency of chromosomal aberrations in 5 210 patients for the period January 1990-April 2017

Rodzaj aberracji chromosomowej <i>Type of chromosome aberration</i>	Liczba osób będących nosicielami aberracji (%) <i>Number of patients diagnosed with an aberration (%)</i>	Częstość aberracji na parę (%) <i>Frequency of chromosomal aberrations per couple (%)</i>
Translokacje wzajemne <i>Balanced translocations</i>	99 (56,6)	3,80
Translokacje robertsonowskie <i>Robertsonian translocations</i>	34 (19,4)	1,31
Inne* <i>Other types*</i>	33 (18,9)	1,27
Liczbowe <i>Numerical</i>	13 (7,4)	0,50
Ogółem <i>Altogether</i>	175 (100)	6,72

*inwersje, delecje, duplikacje, chromosomy markerowe, chromosomy dicentryczne

*inversions, deletions, duplications, marker chromosomes, dicentric chromosomes

Tabela IV. Kariotypy nosicieli aberracji chromosomowych pacjentów z grupy I za okres czerwiec 2010-kwiecień 2017

Table IV. Karyotypes of carriers of chromosomal aberrations from group I. Analysis for the period June 2010-April 2017

Lp. <i>No</i>	Liczba utrat ciąży <i>Number of pregnancy losses</i>	Kariotyp nosiciela aberracji chromosomowej <i>Karyotype of carriers of chromosomal aberrations</i>
1.	3 poronienia / pregnancy losses	46,XX,t(1;2)(q32;q32.2),t(18;20)(p11.2;p11.2)
2.	3 poronienia / pregnancy losses	46,XY,inv(3)(q12q27)
3.	2 poronienia / pregnancy losses	46,XX,t(3;4)(p25;q12)
4.	3 poronienia / pregnancy losses	46,XY,t(3;14)(q12;q13)
5.	3 poronienia / pregnancy losses	46,XX,t(5;17)(p11;q11.2)
6.	2 poronienia / pregnancy losses	46,XY,t(6;9)(q16.2;p22)
7.	2 poronienia / pregnancy losses	46,XX,t(7;20)(p15;q13.3)
8.	3 poronienia / pregnancy losses	46,XX,t(8;18)(q22.1;q11.1)
9.	2 poronienia / pregnancy losses	45,XX,der(13;14)(q10;q10)
10.	2 poronienia / pregnancy losses	45,XX,der(13;14)(q10;q10)
11.	2 poronienia / pregnancy losses	45,XX,der(13;14)(q10;q10)
12.	2 poronienia / pregnancy losses	46,XY,der(15)t(Y;15)(q11.23;p11.2)
13.	2 poronienia / pregnancy losses	mos 45,X[18]/46,XX[21]
14.	2 poronienia / pregnancy losses	47,XXX

Tabela V. Kariotypy nosicieli aberracji chromosomowych pacjentów z grupy II za okres czerwiec 2010-kwiecień 2017

Table V. Karyotypes of carriers of chromosomal aberrations from group II. Analysis for the period June 2010-April 2017

Lp. No	Wskazanie do badania cytogenetycznego <i>Indication for cytogenetic analysis</i>	Kariotyp nosiciela aberracji chromosomowej <i>Karyotype of carriers of chromosomal aberrations</i>
1.	wady wrodzone u dziecka / <i>child with congenital malformations</i>	46,XY,t(1;5)(q32;p15)
2.	jw. / ssa	46,XX,t(1;12)(q41;q24.1)
3.	jw. / ssa	46,XX,t(1;16)(q21.1;q12.1)
4.	jw. / ssa	46,XX,t(2;18)(p24;q23)
5.	jw. / ssa	46,XX,t(3;8)(p26;p21)
6.	jw. / ssa	46,XY,t(4;11)(q12;p15)
7.	jw. / ssa	46,XY,t(4;11)(p16.1;q24.1),inv(9)(p12q13)
8.	jw. / ssa	46,XX,t(4;22)(q25;q13)
9.	jw. / ssa	46,XY,t(5;10)(p13.1;q11.2)
10.	jw. / ssa	46,XX,t(5;12)(p13;q24)
11.	jw. / ssa	46,XX,t(7;9)(q36;p21.2)
12.	jw. / ssa	46,XX,t(11;17)(q23;q25)
13.	jw. / ssa	45,XX,der(13;21)(q10;q10)
14.	jw. / ssa	45,XX,der(13;21)(p10;p10)
15.	jw. / ssa	45,XX,der(14;15)(q10;q10)
16.	jw. / ssa	45,XX,der(14;21)(q10;q10)
17.	jw. / ssa	46,XX,del(17)(p11.2p11.2)
18.	jw. / ssa	46,XY,ish ?inv(19)(q13.3q13.4)(wcp19+)
19.	jw. / ssa	46,X,t(X;6)(p22.1;q27)
20.	wady wrodzone u dziecka i utraty ciąży <i>child with congenital malformations and the history of pregnancy loss</i>	46,XX,t(4;18)(p14;q21.3)
21.	jw. / ssa	46,XX,t(4;18)(p15.2;q21.1)

LEGENDA: jw. – jak wyżej;

ang. LEGEND: *saa* – same as above

Tabela VI. Kariotypy nosicieli aberracji chromosomowych pacjentów z grupy III za okres czerwiec 2010-kwiecień 2017

Table VI. Karyotypes of carriers of chromosomal aberrations from group III analysis for the period June 2010-April 2017

Lp. No	Wskazanie do badania cytogenetycznego <i>Indication for cytogenetic analysis</i>	Kariotyp nosiciela aberracji chromosomowej <i>Karyotype of carriers of chromosomal aberrations</i>
1.	niepłodność / <i>infertility</i>	46,XX,ish inv(1)(q32.3q42.3)(wcp1+)
2.	jw. / ssa	46,XX,t(5;9)(q31;q22)
3.	jw. / ssa	46,XY,t(6;16)(q13;q22)
4.	jw. / ssa	46,XY,dic(15;?)(p13;?)
5.	jw. / ssa	46,X,del(X)(q26.1)
6.	jw. / ssa	mos 45,X[4]/47,XXX[2]/46,XX[98]
7.	jw. / ssa	mos 46,X,-Y,+mar.ish der(Y)(wcpY+,SRY+)[14]/45,X[4]
8.	jw. / ssa	47,XXY
9.	jw. / ssa	47,XXY
10.	jw. / ssa	47,XXY
11.	jw. / ssa	47,XXY
12.	jw. / ssa	47,XXY,inv(9)(p12q13)

LEGENDA: jw. – jak wyżej;

ang. LEGEND: *saa* – same as above

DYSKUSJA

Na przestrzeni ostatnich 25 lat liczba badań cytogenetycznych przeprowadzanych w skali roku w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki (obecnie wykonywanych w ramach pracy Laboratorium Genetyki Klinicznej UCK) wzrosła ponad dwukrotnie – z 256 w roku 1990 do 613 w roku 2016. Początkowo odsetek pacjentów kierowanych na badania kariotypu z powodu niepowodzeń rozrodu wzrósł z poziomu 27% w roku 1990 do 53% w roku 2010. Następnie wartość ta uległa spadkowi do 40% w roku 2013 i 30% w roku 2016. W okresie od stycznia do kwietnia 2017 roku odsetek ten wyniósł 36%, co może wskazywać na zahamowanie obserwowanej w ostatnich latach tendencji spadkowej. Przyczyn początkowego wzrostu odsetka pacjentów badanych z powodu niepowodzeń rozrodu można upatrywać w upowszechnieniu się wiedzy z zakresu genetyki oraz poprawie dostępności poradni genetycznych dla pacjentów, na co wskazuje również wzrost ogólnej liczby przeprowadzanych badań cytogenetycznych, jak również w rozpowszechnieniu się techniki zapłodnienia pozaustrojowego (*in vitro*). Przyczyny spadku odsetka obserwowanego w ostatnich latach pozostają w sferze spekulacji, nie bez znaczenia wydaje się pojawienie się możliwości wykonywania badań w komercyjnych laboratoriach należących do klinik leczenia niepłodności.

W grupie 5 210 przebadanych pacjentów zidentyfikowano 175 aberracji chromosomowych, co przekłada się na 6,72-procentową częstość występowania aberracji w przeliczeniu na parę i mieści się w zakresie częstości aberracji określonej w innych publikacjach dla grup pacjentów z niepowodzeniami rozrodu (od 2 do 13,1%) [2, 5, 8, 11, 13, 18]. Różnice w częstości stwierdzania aberracji wynikać mogą z różnej liczebności badanych grup oraz różnych kryteriów doboru pacjentów pod względem szczegółowych wskazań do badań cytogenetycznych. Po wyodrębnieniu grupy obejmującej pacjentów z utratami ciąży i wadami wrodzonymi u dzieci częstość występowania aberracji w tej grupie wyniosła 7,17% na parę, co jest zgodne z wynikami badań grupy 2 150 pacjentów o identycznym profilu wskazań, w której częstość ta wyniosła 7% [11]. W grupie 1 290 pacjentów o zbliżonym profilu wskazań, w której wśród wad wrodzonych uwzględniono jedynie wady rozpoznane w badaniach prenatalnych, częstość ta wyniosła 7,72% na parę [2].

Zaobserwowane w badanej grupie najczęstsze zaangażowania w aberracje chromosomów 14, 13, 21, 1, 8, 3, 15, 5 i 4 (w tym chromosomów 14, 13, 21 i 15 przede wszystkim w translokacje robertsonowskie) porównano z wynikami badań na innych dużych grupach pacjentów. Chromosomy 1, 8, 5 i 4 wymieniane są wśród najczęściej zaangażowanych w translokacje zrównoważone również w publikacjach innych autorów [4, 5, 7, 10, 12, 19, 21]. Najczęstsze występowanie translokacji t(13;14) wśród translokacji robertsonowskich jest także zgodne z wynikami innych badań [5, 6, 16, 21].

Częstość występowania translokacji wzajemnych, stanowiących najczęstszy typ stwierdzanych aberracji (3,8% na parę), niemal 3-krotnie przewyższała częstość występowania translokacji robertsonowskich (1,31% na parę). Jest to zgodne z wynikami innych badań, w których translokacje wzajemne występowały najczęściej i poprzedzały pod względem częstości występowania translokacje robertsonowskie [4-8, 10-12, 18, 21]. Zjawisko częstszego występowania translokacji zrównoważonych zaobserwowano w licznych badaniach na dużych grupach pacjentów, a jego prawdopodobnym wyjaśnieniem jest obniżenie lub zniesienie zdolności zapładniającej plemników u mężczyzn, będących nosicielami translokacji zrównoważonych [4-8, 10-13, 18, 21]. Liczba aberracji stwierdzonych wśród kobiet przewyższała liczbę aberracji rozpoznanych w grupie mężczyzn, stanowiąc 62,86% wszystkich zidentyfikowanych zmian. Na uzyskany wynik wpłynąć mogła również wyższa liczba przebadanych kobiet niż mężczyzn.

Częstość występowania aberracji chromosomowych w grupie pacjentów z co najmniej trzema samodzielnymi utratami ciąży (4,79% na parę) pozostaje zbliżona do częstości występowania aberracji

w grupie pacjentów badanych z powodu obciążenia dwukrotną utratą ciąży (4,18% na parę), co potwierdza zasadność przeprowadzania badania kariotypu już po drugiej utracie ciąży. Obserwacja ta jest zgodna z innymi, dotychczas opublikowanymi wynikami badań na dużych grupach pacjentów, które nie potwierdziły sugerowanych w badaniach na mniejszym materiale istotnych różnic w częstości występowania aberracji między grupami pacjentów z dwoma oraz większą liczbą utrat ciąży [4, 12, 21]. Mimo iż obciążenie dwukrotną utratą ciąży stanowi rutynowe wskazanie do badania kariotypu, 26,81% pacjentów badanych z powodu utrat ciąży zostało skierowanych do poradni genetycznej dopiero po trzeciej lub kolejnej utracie.

W przebadanej grupie 5 210 pacjentów inwersja perycentryczna chromosomu 9: inv9(p13q13), uznawana za zmianę polimorficzną nieskutkującą konsekwencjami klinicznymi, występowała z częstością 2,57% na parę, co pozostaje w zgodzie z wynikami trzech opublikowanych wcześniej badań przeprowadzonych w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki na tej samej populacji lokalnej oraz z częstością występowania wyżej wymienionej zmiany w populacji ogólnej wynoszącą 1-2% [9, 14-16]. Uzyskane wyniki nie wskazują na związek między obecnością inwersji perycentrycznej chromosomu 9 a niepowodzeniami rozrodu, co zgadza się z wynikami innych badań przeprowadzonych na dużych grupach pacjentów [2, 14, 15]. W związku z postulowaną przez niektórych autorów możliwością znaczenia inwersji chromosomu 9 w etiologii niepowodzeń rozrodu wskazane jest przeprowadzenie dalszych badań w tym kierunku [4, 10].

Częstość występowania aberracji w grupie pacjentów skierowanych na badanie kariotypu z powodu stwierdzenia wad wrodzonych u dziecka lub płodu oraz par obciążonych jednocześnie wadami i utratami ciąży wyniosła 15,52% na parę, co przewyższa ponad 3,5-krotnie częstość występowania aberracji w grupie pacjentów badanych wyłącznie z powodu samoistnych utrat ciąży (4,34% na parę). Potwierdza to podobne obserwacje z innych opublikowanych badań, przeprowadzonych na dużym materiale klinicznym [10, 13].

W grupie pacjentów z rozpoznaniem niepłodności, w tym pacjentów przed planowaną procedurą zapłodnienia *in vitro*, częstość aberracji chromosomowych wyniosła 4,09% w przeliczeniu na parę. Odpowiada to podwyższonej w stosunku do populacji ogólnej częstości występowania aberracji wśród par badanych cytogenetycznie przed procedurą zapłodnienia *in vitro* stwierdzanej w innych publikacjach [1, 3]. W materiale z lat 1990-2003 opisano trzy przypadki aberracji stwierdzonych u pacjentów skierowanych na badanie kariotypu (0,17%) po nieudanych próbach *in vitro*. Mimo iż w późniejszych latach nie odnotowano podobnych przypadków, wśród pacjentów kierowanych do poradni genetycznych nadal zdarzają się pary po nieudanych próbach zapłodnienia pozaustrojowego, u których nie wykonano badania kariotypu przed wdrożeniem procedury zapłodnienia *in vitro*. Ze względu na możliwości diagnostyki preimplantacyjnej, rozwój technik wspomaganego rozrodu oraz obciążenia finansowe i psychologiczne związane z nieudanymi próbami *in vitro* zasadnym jest rutynowe wykonywanie badania kariotypu u każdej pary przed planowanym zapłodnieniem pozaustrojowym.

WNIOSKI

1. Po początkowym wzroście odsetka par badanych cytogenetycznie z powodu niepowodzeń rozrodu z 27 do 53% wszystkich wykonywanych badań cytogenetycznych w skali roku, zaobserwowanym w okresie 1990-2010, w ostatnich latach odnotowuje się jego spadek. Obecnie odsetek ten utrzymuje się na poziomie 30-40%.
2. Częstość aberracji chromosomowych w grupie 5 210 pacjentów skierowanych na badania kariotypu z powodu niepowodzeń rozrodu wynosi 6,72% na parę.

3. Mimo iż już dwukrotna samoistna utrata ciąży stanowi uzasadnione wskazanie do badania kariotypu u obojga partnerów, co potwierdzają wyniki niniejszego badania, w grupie pacjentów skierowanych na badania cytogenetyczne z powodu utrat ciąży 26,81% stanowią pacjenci z wywiadem obciążonym co najmniej trzema utratami.
4. Częstość występowania aberracji strukturalnych w grupie pacjentów badanych cytogenetycznie z powodu wad wrodzonych u dziecka/płodu lub z powodu współistnienia wad i utrat ciąży jest ponad 3,5 raza wyższa niż w grupie pacjentów badanych wyłącznie z powodu samoistnych utrat ciąży.
5. Z uwagi na 4,09-procentową w przeliczeniu na parę częstość występowania aberracji chromosomowych wśród pacjentów z rozpoznaniem niepłodności oraz stwierdzanie aberracji wśród pacjentów korzystających z techniki zapłodnienia pozaustrojowego badanie cytogenetyczne powinno być rutynowo zlecane przed każdą planowaną procedurą zapłodnienia *in vitro*.

PIŚMIENNICTWO

1. Artini P. G., Papini F., Ruggiero M., Bartalini G., De Leo V., Scaravelli G., Piomboni P., Cela V.: Genetic screening in Italian infertile couples undergoing intrauterine insemination and in vitro fertilization techniques: a multicentric study. *Gynecol. Endocrinol.* 2011, 27, 7, 453. – 2. Celep F., Karagüzel A., Ozeren M., Bozkaya H.: The frequency of chromosomal abnormalities in patients with reproductive failure. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2006, 127, 1, 106. – 3. Clementini E., Palka C., Iezzi I., Stuppia L., Guanciali-Franchi P., Tiboni G. M.: Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod.* 2005, 20, 2, 437. – 4. Dubey S., Chowdhury M. R., Prahlad B., Kumar V., Mathur R., Hamilton S., Kabra M., Menon P. S. N., Verma I. C.: Cytogenetic causes for recurrent spontaneous abortions : an experience of 742 couples (1484 cases). *Indian J. Hum. Genet.* 2005, 11, 2, 94. – 5. Dutta U. R., Rajitha P., Pidugu V. K., Dalal A. B.: Cytogenetic abnormalities in 1162 couples with recurrent miscarriages in southern region of India: report and review. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2011, 28, 2, 145. – 6. Fan H. T., Zhang M., Zhan P., Yang X., Tian W. J., Li R. W.: Structural chromosomal abnormalities in couples in cases of recurrent spontaneous abortions in Jilin Province, China. *Genet. Mol. Res.* 2016, 15, 1, gmr15017443. – 7. Gada Saxena S., Desai K., Shewale L., Ranjan P., Saranath D.: Chromosomal aberrations in 2000 couples of Indian ethnicity with reproductive failure. *Reprod. Biomed. Online* 2012, 25, 2, 209. – 8. Ghazaei S., Keify F., Mirzaei F., Maleki M., Tootian S., Ahadian M., Abbaszadegan M. R.: Chromosomal analysis of couples with repeated spontaneous abortions in northeastern Iran. *Int. J. Fertil. Steril.* 2015, 9, 1, 47. – 9. Gnatowska B.: Wyniki badań cytogenetycznych u 1000 osób z niepowodzeniami rozrodu : praca magisterska. Gdańsk : Akademia Medyczna, 2008. – 10. Goud T. M., Al Harassi S. M., Al Salmani K. K., Al Busaidy S. M., Rajab A.: Cytogenetic studies in couples with recurrent miscarriage in the Sultanate of Oman. *Reprod. Biomed. Online* 2009, 18, 3, 424.
11. Iyer P., Wani L., Joshi S., Lakshmi J., Dalvi R., Chavan D., Das B. R., Mandava S.: Cytogenetic investigations in couples with repeated miscarriages and malformed children: report of a novel insertion. *Reprod. Biomed. Online* 2007, 14, 3, 314. – 12. Kochhar P. K., Ghosh P.: Reproductive outcome of couples with recurrent miscarriage and balanced chromosomal abnormalities. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2013, 39, 1, 113. – 13. Nazmy N. A.: Cytogenetic studies of couples with reproductive failure in Alexandria, Egypt. *J. Egypt. Public Health Assoc.* 2008, 83, 3/4, 255. – 14. Matheisel A., Babińska M., Żychska A., Mrózek K., Szczurowicz A., Iliszko M., Mrózek E., Mielnik J., Midro A. T., Limon J.: Wyniki badań cytogenetycznych 926 pacjentów z wywiadem obciążonym niepowodzeniami rozrodu. *Ginekol. Pol.* 1997, 68, supl. 2, 69. – 15. Mrózek K., Mrózek E., Nedoszytko B., Babińska M., Gościński W., Mielnik J., Limon J.: Badania cytogenetyczne w rodzinach z niepowodzeniami rozrodu. *Wiad. Lek.* 1989, 42, 19-21, 1014. – 16. Mrózek K., Mrózek E., Babińska M., Nedoszytko B., Żychska A., Matheisel A., Mielnik J., Limon J.: Analiza kariotypu 451 pacjentów z wywiadem obciążonym niepowodzeniami rozrodu. *Ann. Acad. Med. Gedan.* 1992, 22, 9. – 17. Ochman K., Kuźniacka A., Iliszko M., Babińska M., Kardaś I., Stasiewicz-Jarocka B., Midro A., Limon J.: Wyniki badań cytogenetycznych u 1817 osób z niepowodzeniami rozrodu. *Ann. Acad. Med. Gedan.* 2003, 33, 153. – 18. Sheth F. J., Liehr T., Kumari P., Akinde R., Sheth H. J., Sheth J. J.: Chromosomal abnormalities in couples with repeated fetal loss: an Indian retrospective study. *Indian J. Hum. Genet.* 2013, 19, 4, 415. – 19.

Sudhir N., Kaur T., Beri A., Kaur A.: Cytogenetic analysis in couples with recurrent miscarriages: a retrospective study from Punjab, North India. *J. Genet.* 2016, 95, 4, 887. – 20. Szałecka K., Gintowt A., Ochman K., Kuźniacka A., Iliszko M., Babińska M., Kardaś I., Żukowska H., Kuziemska E., Zdzitowiecka M., Gnatowska B., Wierzba J., Lipska B. S., Limon J.: Analiza kariotypów u 3616 pacjentów z wywiadem obciążonym niepowodzeniami rozrodu. *Ann Acad Med. Gedan* 2010, 40, 91.

21. Tunç E., Tanrıverdi N., Demirhan O., Süleymanova D., Çetinel N.: Chromosomal analyses of 1510 couples who have experienced recurrent spontaneous abortions. *Reprod. Biomed. Online* 2016, 32, 4, 414.

A. Gintowt, K. Szałecka, A. Kuźniacka, H. Żukowska, E. Kuziemska, M. Zdzitowiecka, I. Kardaś, M. Iliszko, J. Limon, B. Lipska-Ziętkiewicz

KARYOTYPE ANALYSIS IN 5 210 INDIVIDUALS WITH A HISTORY OF REPRODUCTIVE FAILURE

Summary

Cytogenetic analysis was performed in 5 210 patients – 2 520 couples and 170 individuals: 133 women and 37 men with a history of reproductive failure clinically presenting as spontaneous pregnancy losses and/or multiple congenital anomalies detected in a child or a foetus as well as various forms of infertility. Chromosomal aberrations were detected in 175 cases, which constituted 6,72% of the analyzed couples. Among 164 cases with structural aberrations the patients had either reciprocal or Robertsonian translocations (reciprocal translocations occurred almost three times more often than Robertsonian translocations). In addition, 21 cases of inversions were found (chromosomes engaged in inversions were 2, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 16, 17 and 19). Pericentric inversion of chromosome 9 was diagnosed in 67 patients, which constituted 2,57% of the analyzed couples. In four patients a marker chromosome was found, twice dup(9) and single cases of del(12), del(17), del(Y), ins(9), fra(7) and dic(15;?) were also observed. In eleven cases numerical aberrations of chromosome X occurred, three times in a mosaic form. Chromosomes 14, 13, 21, 1, 8, 3, 15, 5 and 4 were most frequently involved in aberrations, with chromosomes 13 and 14 mainly involved in Robertsonian translocations. These data provide further evidence supporting the necessity of cytogenetic evaluation of both partners in cases of various reproductive failures, including a history of at least two spontaneous pregnancy losses.

Adres: dr hab. med. Beata Lipska-Ziętkiewicz
Pracownia Genetyki Klinicznej
Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej GUMed
ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk
b.lipska@gumed.edu.pl