

## Genetická analýza abortov

Katarína Tóthová<sup>1,2</sup>, Dagmar Landlová<sup>2</sup>, Ľubica Majerová<sup>1,2</sup>, Renata Lukačková<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>MEDIREX GROUP ACADEMY n.o., Nitra

<sup>2</sup>Medirex, a.s., Oddelenie lekárskej genetiky, Bratislava

Spontánny potrat je pomerne častý jav a postihuje približne každú 5. ženu v reprodukčnom veku. Spontánnym potratom je ukončených približne 20 % klinicky potvrdených tehotenstiev. Častou príčinou vnútromaternicovej retardácie a následného odumretia plodu či abortu sú genetické príčiny. Polovica spontánnych potratov v prvom trimestri a približne 30 % spontánnych potratov v neskorších týždňoch tehotenstva vzniká následkom chromozómových aberácií, najčastejšie aneuploidii. K abortom môže dôjsť okrem aneuploidii následkom štruktúrnych chromozómových aberácií. Sú to rôzne delécie, duplikácie, inverzie či vyvážené translokácie. Pomocou rôznych genetických metód sa vyšetruje možná príčina spontánneho potratu.

**Kľúčové slová:** spontánny potrat, genetická analýza, karyotyp, QF-PCR

### Genetic analyses of abortions

Miscarriage is a fairly common phenomenon and affects approximately every 5th woman of reproductive age. Approximately 20% of clinically confirmed pregnancies are terminated by spontaneous abortion. Genetic causes are a common cause of intrauterine retardation and subsequent death or miscarriage of the foetus. Roughly half of the miscarriages in the first trimester and roughly 30% of miscarriages in later weeks of pregnancy are caused by chromosomal aberrations, most often by aneuploidies. In addition to aneuploidies, spontaneous abortion can also occur due to structural chromosome aberrations, various deletions, duplications, inversions or balanced translocations. Various genetic methods investigate the possible cause of spontaneous abortion.

**Keywords:** miscarriages, genetic analysis, karyotype, QF-PCR

NewsLab, 2022; roč. 13 (2): 72 – 75

### Úvod

Častými príčinami abnormálneho vývinu plodu sú okrem ne-genetických príčin (infekcie, hematologické príčiny, materské anatomické a fyziologické anomálie, environmentálne vplyvy) práve genetické príčiny. Väčšie či menšie zmeny v štruktúre chromozómu môžu viesť k narodeniu postihnutého dieťaťa, k odumretiu plodu a spontánnym potratom. Mnohokrát k nim dochádza následkom numerických zmien buď celých chromozómov, alebo ich častí. Rôzne štruktúrne aberácie chromozómov u plodu môžu vzniknúť následkom vyvázenej štruktúrnej chromozómovej aberácie u jedného alebo u oboch rodičov. Fenotypovo bezpríznakoví rodičia sú prenášačmi týchto genetických zmien, ktoré sa v priebehu redukčného delenia môžu premeniť na nebalansovanú aberáciu u plodu. Genetická analýza napomáha detekcie týchto genetických príčin.

### Spontánny potrat

Podľa vyhlášky MZSR (Ministerstva zdravotníctva Slovenskej Republiky) č. 22/1988 Zb. ide o samovoľný potrat, ak hmotnosť plodu nedosiahne 500 g a prežívanie plodu je maximálne 24 hodín alebo ak sa plod narodí bez známok života (dýchanie, srdcová činnosť, pohyby svalstva, pulzácia pupočníka) s maximálnou hmotnosťou 1 000 g<sup>(1)</sup>. Spontánne potraty sa podľa týždňa tehotenstva delia na včasné, skoré (do 12. týždňa) a neskoré (medzi 12. – 28. týždňom)<sup>(2)</sup>. O izolovanom potrate hovoríme, ak k potratu dôjde náhodne len raz. U žien s tromi alebo viacerými potratmi za sebou pred 20. týždňom tehotenstva hovoríme o habituálnom potratáckom, ktoré postihuje asi 2 – 5 % párov.

### Genetické príčiny porúch vnútromaternicového vývoja a abortov

Prenatálny vývoj je obdobie života od oplodnenia až po narodenie. Pri poruche vnútromaternicového vývoja môžu vzniknúť rôzne vrodené chyby. Funkčné (metabolické ochorenia) sú diagnostikované väčšinou až po narodení dieťaťa, kým štruktúrne už počas vnútromaternicového vývoja. Existuje celá škála rôznych faktorov vedúcich od poškodenia až po odumretie plodu.

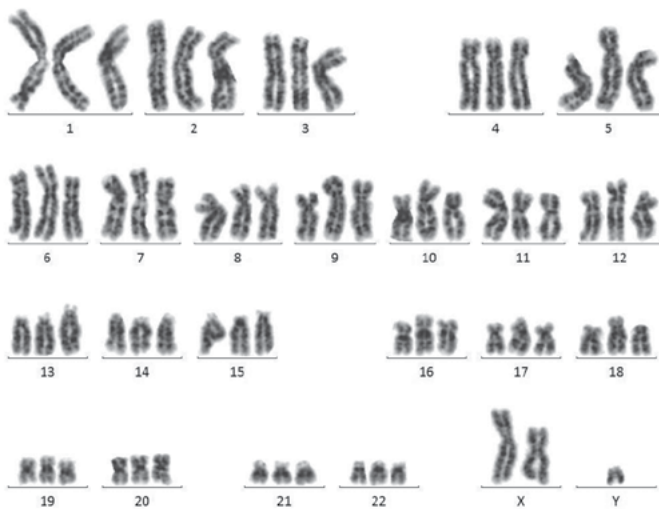
Genetické príčiny vnútromaternicových vývojových porúch majú základ pri tvorbe gamét. Každá bunka obsahuje jadro, v ktorom je uložená genetická informácia v podobe chromozómov. Počas ich mitotického či meiotického delenia môže dochádzať k poruchám v počte alebo štruktúre chromozómov. Mutácie konkrétneho génu alebo súboru génov vznikajú de novo alebo sú zdedené od rodičov<sup>(3)</sup>.

### Chromozómové aberácie

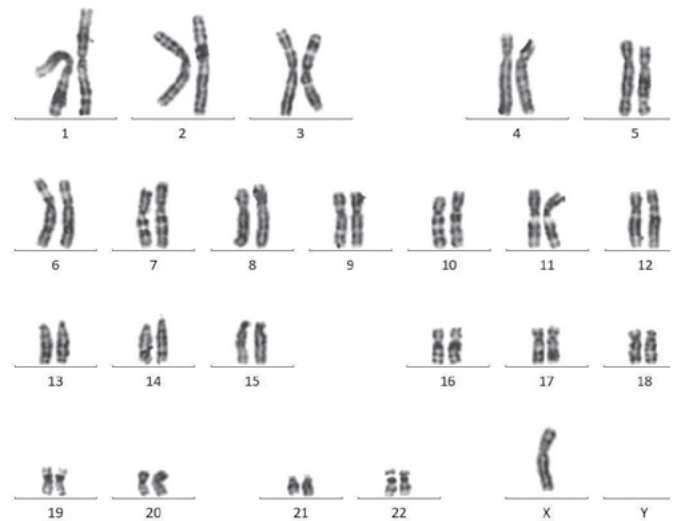
K abortom dochádza veľakrát následkom chromozómových abnormalít plodu. Vznikajú väčšinou de novo následkom náhodných chýb. K poruchám dochádza v štruktúre alebo v počte už konkrétnych chromozómov či chromozómových úsekov autozómov alebo gonozómov. Rozdeľujeme ich na numerické a štruktúrne.

**Numerické chromozómové aberácie** sú odchýlky od normálneho diploidného počtu 46 chromozómov. Zmeny v počte jednotlivých chromozómov nazývame aneuploidiami a zmeny celých chromozómových súborov polyploidiami. Polyploidné embryá, najmä triploidné (**obrázok 1**), odu-

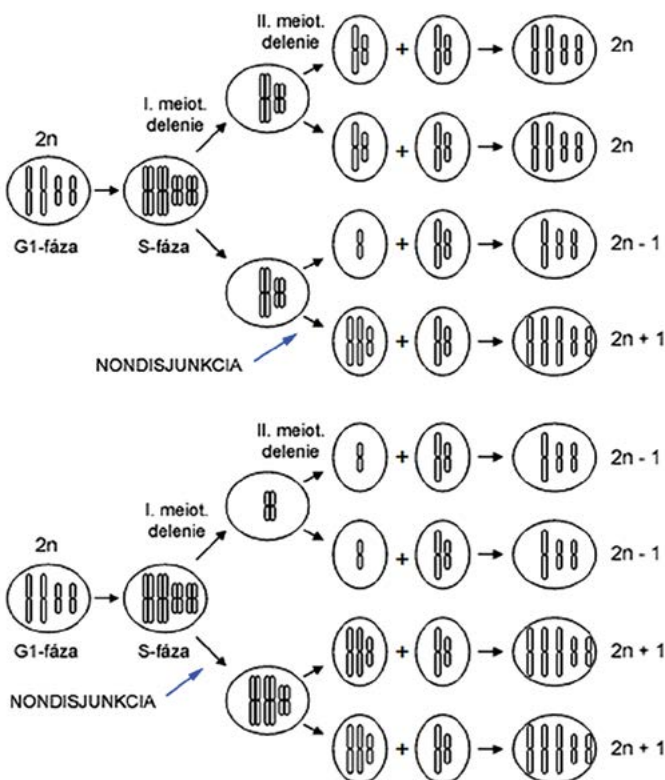
**Obrázok 1.** Triploidia 69,XXY (Medirex, a. s.)



**Obrázok 3.** Monozómia X chromozómu – 45,X (Medirex, a. s.)



**Obrázok 2.** Nondisjunkcia počas meiotického delenia, typy vznikajúcich gamét



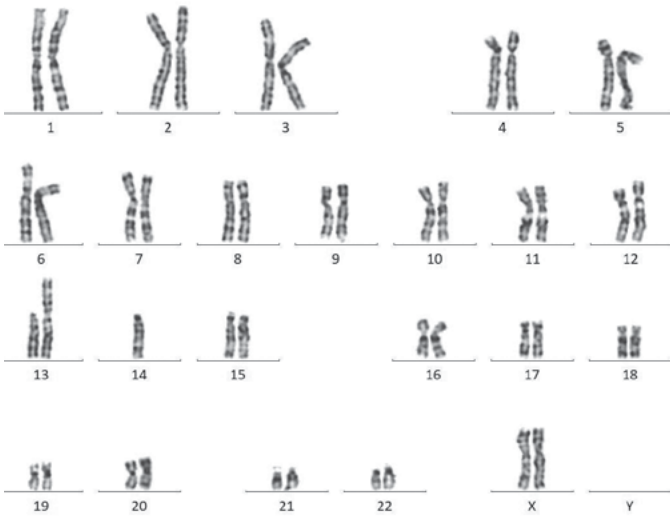
mierajú vo väčšine prípadov hneď v počiatkoch tehotenstva. Numerické aberácie vznikajú najmä nondisjunkciou v priebehu I. alebo II. meiózy (**obrázok 2**). Homologické páry chromozómov sa neoddelia, vznikajú gaméty s prebytočným alebo chýbajúcim chromozómom. Predčasná segregácia sesterských chromatíd (PSSC) rovnako patrí medzi mechanizmy chybného rozdelenia chromatíd. Vznikajú bunky s nadpočetnou alebo chýbajúcou chromatídou<sup>(4)</sup>.

Aneuploidie sú najčastejšie chromozómové aberácie. Buď chýba jedna kópia chromozómu (monozómia), ale-

bo je prítomný jeden nadpočetný chromozóm (trizómia). K chybnnej segregácii dochádza vo väčšej miere pri malých chromozómoch, najčastejšie 21. chromozómu, 22. chromozómu a Y chromozómu<sup>(5)</sup>. V prípade intrauterinných rastových a vývojových retardácií či spontánnych abortov je ich výskyt častý. V skorých štádiách tehotenstva (do 10. t. t.), v embryonálnej fáze vnútro maternicového vývoja, je výskyt týchto aberácií vyšší<sup>(6)</sup>. Z prvotrimestrálnych spontánnych abortov je čistá línia trizómie 16. chromozómu najčastejšia (16 %). Je so životom nezlučiteľná. Plod s mozaikovou formou trizómie 16. chromozómu sa mnohokrát narodí s minimálnymi následkami a miernymi malformáciami<sup>(7)</sup>. Detegovanými aberáciami u potratených plodov sú aj trizómie 22. a 9. chromozómu a so životom nezlučiteľné trizómie 1., 19. a 20. chromozómu. Monozómia X chromozómu (Turnerov syndróm) (**obrázok 3**) a Klinefelterov syndróm (XXY syndróm) patria medzi gonozómové aberácie vedúce k predčasným potratom.

**Štruktúrne chromozómové aberácie** sú výsledkom chromozómového zlomu a následného nesprávneho opätovného spojenia chromozómových segmentov či výmenou nehomologických chromozómových úsekov (porucha crossing overu). Vyskytujú sa zriedkavejšie ako numerické chromozómové aberácie. Pôvod môžu mať v gamétach, vtedy hovoríme o zárodočných aberáciách. O získaných aberáciách hovoríme, ak majú pôvod v somatických bunkách. Dochádza k strate, získaniu či presunu genetického materiálu v rámci chromozómu alebo medzi chromozómami. Rozdeľujeme ich na vyvážené (balansované), keď nedochádza k strate alebo zisku genetického materiálu, alebo nevyvážené (nebalansované), keď dochádza k zmene množstva genetického materiálu. Štruktúrne balansované (vyvážené) translokácie u rodičov môžu viesť až k opakovaným abortom. U párov s abnormálnym karyotypom sa zvyšuje pravdepodobnosť, že sa im narodí dieťa s genetickou poruchou. Frekvencia ich výskytu u potratených plodov je zhruba 4 %<sup>(8)</sup>. Medzi nezaradujeme inverzie, recipročné či Robertsonove translokácie (**obrázok 4**), delécie či duplikácie, izochromozóm či ring chromozóm.

**Obrázok 4.** Robertsova translokácia – 45,XX,rob(13;14)(q10;q10) (Medirex, a. s.)



## Placentárny mozaicizmus

Mozaicizmus je stav, keď v organizme sú prítomné minimálne 2 bunkové línie s odlišnou chromozómovou výbavou. Vzniká genotypová a fenotypová heterogenita medzi rôznymi tkanivami<sup>(9)</sup>. Mozaiky sa týkajú väčšinou štruktúrnych chromozómových aberácií. Čím je vyššie percento patologickú línie, tým sú klinické prejavy u nositeľa ťažšie. Placentárny mozaicizmus vzniká pri vývoji embrya. Z aneuploidných buniek vznikne placenta, kým z buniek s normálnym karyotypom vznikne plod. Fetálne a placentárne bunky majú odlišné chromozómové zastúpenie. Placenta s aberantnou chromozómovou výbavou svoju funkciu nemusí správne vykonávať, následkom toho plod nie je dostatočne vyživovaný a odumiera<sup>(10)</sup>.

## Submikroskopické príčiny spontánnych potratov

Príčina opakovaných potratov dlho nebola objasnená. Skúmaním prípadov idiopatických opakovaných abortov sa prišlo na to, že na vine môžu byť submikroskopické zmeny genetického materiálu. CNV (copy number variant) sú štruktúrne varianty, rôzny počet opakovaní tej istej DNA sekvencie. Ich veľkosť varíruje od 50 bp po Mb<sup>(11)</sup>. Ide o bežnú súčasť genetickej informácie, ktorá je základom pre vytvorenie populačnej diverzity. Dôležitú úlohu hrajú aj v evolúcii, rôznych biologických procesoch, ale aj v rozvoji rôznych ochorení<sup>(12)</sup>. Ide najmä o benígne varianty, ktoré nie sú kauzálne pre žiadne ochorenie, v populácii je ich zastúpenie väčšie ako 1 %. Dedia sa medzi generáciami. CNV zdedené od bezpríznakového rodiča môže pri vývoji embrya viesť k narušeniu génu či viacerých génov. Submikroskopické aberácie sú asociované s kongenitálnymi a neurodegeneratívnymi ochoreniami. Môžu ovplyvniť efekt génovej dávky génov ovplyvňujúcich priebeh skorého tehotenstva, môžu narušiť normálnu segregáciu chromozómov, a tým vznik aneuploidii.

## Prenatálna genetická diagnostika abortov

Prenatálna diagnostika je súbor vyšetrovacích metód, ktoré slúžia na skoré odhalenie vývojových a chromozómových porúch plodu. Rozdeľujeme ju na neinvazívnu a invazívnu.

**Neinvazívne metódy** zaraďujeme medzi vyšetrenia bez inštrumentálneho zásahu do tela matrice. Neinvazívny genetický test (NIPT – non-invasive prenatal test) skúma voľnú fetálnu DNA (cfDNA – cell-free DNA) pochádzajúcu z krvi matky bez nutnosti odberu plodovej vody<sup>(13)</sup>. Ide o skriningovú metódu, v prípade pozitivity ju treba potvrdiť invazívnym odberom plodovej vody a následným genetickým vyšetrením.

O **invazívnom genetickom testovaní** hovoríme, ak sa vykonáva zásah do matrice pre zabezpečenie odberu vzorky. Odoberá sa plodová voda v priebehu 2. trimestra (od 16. t. t.), alebo choriónové klky v skorších týždňoch (10. – 13. t. t.) tehotenstva. Zaraďujú sa medzi diagnostické metódy. Indikuje ich lekár genetik po genetickej konzultácii na základe presne určených kritérií opísaných v metodickom liste vydanom Slovenskou spoločnosťou lekárskej genetiky – Indikovanie cytogenetických a molekulárno-cytogenetických vyšetrení (doplnené 05/2021)<sup>(14)</sup>. V prípade vzoriek spontánnych potratov je genetické vyšetrenie indikované, ak sa predpokladá zistenie genetickej príčiny spontánneho potratu alebo úmrtia plodu.

## Genetické laboratórne metódy

Metodiky využívané v genetickej diagnostike sa delia na celogenómové a chromozómové špecifické. Medzi celogenómové patrí konvenčná cytogenetika, array-komparatívna genómová hybridizácia (array-CGH) a sekvenovanie novej generácie (NGS). Medzi chromozómové špecifické techniky patrí fluorescenčná in situ hybridizácia (FISH) a kvantitatívna fluorescenčná PCR (QF-PCR). Ich kombinácia je najrozumnejšia voľba pre dosiahnutie najpresnejšieho výsledku. Správny odber vzorky (vzorka samotného plodu) je dôležitý. V prípade potratov v skorých štádiách je toto skoro nemožné, úplné oddelenie vzorky plodu od ostatného tkaniva je náročné. V prípade zamlčaného potratu je vhodný odber choriónových klkov (CVS). Materiál sa ďalej spracováva podľa vyšetrovacej metodiky. Cytogenetické vyšetrenie karyotypu konvenčnou cytogenetikou (karyotypovanie) vyžaduje kultiváciu vzorky tkaniva. Molekulovogenetické metódy vyžadujú izoláciu DNA plodu aj izoláciu DNA z krvi matky pre následné vylúčenie kontaminácie.

Základnou metódou je cytogenetické karyotypovanie. Metodika je založená na G-pruhovaní, pomocou ktorého sa zviditeľnia metafázické chromozómy aj ich väčšie prestavby. Rozlišovacia schopnosť štandardnej cytogenetickej metódy je 5-10 Mb. Deteguje balansované aj nebalansované prestavby chromozómov, a to aj v mozaikovej forme. Zaujímavou alternatívou karyotypovania vďaka svojej spoľahlivosti, citlivosti, nízkym nákladom, rýchlosti je metodika QF-PCR, ktorá rýchlo v jednej reakcii dokáže amplifikovať, detegovať a analyzovať krátke opakujúce sa sekvencie (STR) a konzervatívne sekvencie, ktorých počet a rozloženie v genóme sú veľmi variabilné a polymorfne. Deteguje najčastejšie numerické aberácie – aneuploidie chromozómov 13., 15., 16., 18., 21., 22., X a Y v pomerne krátkom časovom horizonte (24 – 48 h).

## Záver

Spontánne potraty patria medzi časté a závažné tehotenské komplikácie. Uvádza sa, že len 30 % z celkového

počtu splodených plodov sa dožije pôrodu. Hlavne v prípade včasných potratov sú ich príčinami rôzne genetické chromozómové aberácie. Práve prenatálna genetická diagnostika, či už invazívna, alebo neinvazívna, slúži na skoré odhalenie týchto aberácií. Genetická diagnostika vzorky potrateného plodu je potrebná z pohľadu manažmentu ďalších tehotenstiev. Ak sa podarí odhaliť príčinu, prehľadnotia sa možnosti, ako predísť možným potratom v nasledujúcich graviditách.

#### Podakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dlhodobý strategický výskum a vývoj zameraný na výskyt Lynchovho syndrómu v populácii SR a možnosti prevencie nádorov spojených s týmto syndrómom, kód ITMS: 313011V578, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

#### LITERATÚRA

1. <https://www.zakonypreludi.sk/zz/1988-22>
2. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins – Gynecology. ACOG Practice Bulletin No. 200: Early Pregnancy Loss. *Obstet Gynecol.*; (2018) 132(5): e197-e207.
3. Choi TY, Lee HM, Park WK, et al. Spontaneous abortion and recurrent miscarriage: A comparison of cytogenetic diagnosis in 250 cases. *Obstet. Gynecol. Sci.*, (2014) 57: 518-525.
4. Wartosch L, Schindler K, Schuh M, et al. Origins and mechanisms leading to aneuploidy in human eggs. *Prenatal Diagnosis*; (2021) 41: 620-630.
5. Hassold T, Mylor-Hagen H, Wood A. Failure to recombine is a common feature of human oogenesis. *Am J Hum Genet.*; (2021) 108(1): 16-24.
6. Gu C, Li K, Li R, et al. Chromosomal Aneuploidy Associated With Clinical Characteristics of Pregnancy Loss. *Front Genet.*; (2021) 12: 667-697.
7. Armstrong AA, Gaw SL, Platt LD. 153 – Mosaic Trisomies 8, 9, and 16. *Obstetric Imaging: Fetal Diagnosis and Care (Second Edition)*. Elsevier, (2018) 617-620.
8. Suzumori N, Sugiura-Ogasawara M. Genetic factors as a cause of miscarriage. *Curr Med Chem.*; (2010) 17(29): 3431-3437.
9. Holstege H, Pfeiffer W, Sie D, et al. Somatic mutations found in the healthy blood compartment of a 115-yr-old woman demonstrate oligoclonal hematopoiesis. *Genome Research*, (2014) 24: 733-742.
10. Pašková K, Braxatorisová T, Pagáčová E, a spol. Mozaicizmus v súbore reprodukčných strát. *Praktická Gynekológia*, (1998) 5(2): 60-63.
11. Lauer S, Gresham D. An Evolving View of Copy Number Variants. *Curr. Genet.* (2019) 65, 1287-1295.
12. Henkel J, Saif R, Jagannathan V, et al. Selection signatures in goats reveal copy number variants underlying breed-defining coat color phenotypes. *PLoS Genet.*; (2019) 15(12): e1008536.
13. Harraway J. Non-invasive prenatal testing. *Aust Fam Physician.*; (2017) 46(10): 735-739.
14. <https://www.sslg.sk/index.php/sk/dokumenty/metodicke-pokyny/119-metodicke-usmernenie-infertilita-a-darcovstvo-pohlavnych-bu-niek-upg1>

**RNDr. Katarína Tóthová**

Klinická genetika, Medirex, a. s.,  
Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava  
e-mail: katarina.tothova@medirex.sk