

Cytogenetické varianty v klinické pediatrické praxi

MUDr. Antonín Šípek jr., MUDr. Romana Mihalová, Mgr. Lenka Celbová, MUDr. Aleš Panczak, CSc.

Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN, Praha

Vyšetření karyotypu zůstává i v dnešní době jednou z klíčových genetických vyšetřovacích metod a v rámci dětského lékařství je toto klasické cytogenetické vyšetření pravidelně indikováno. Pediatr se rovněž bezprostředně setkává i s výsledky prenatálně indikovaných cytogenetických vyšetření. Kromě základních cytogenetických abnormalit, tedy numerických či strukturních odchylek chromozomů, však existuje i celá řada klinicky nevýznamných cytogenetických nálezů – chromozomových variant (heteromorfizmů). Zápis karyotypu s takovouto variantou, pokud není doprovázen komentářem, může způsobit zbytečnou nejistotu u indikujícího lékaře, v horším případě může dokonce vzbudit nevhodnou anxiostu u rodičů vyšetřovaného dítěte, pokud jim nebyl klinický význam této varianty náležitě vysvětlen. Připravili jsme proto přehled nejčastějších variant a diskutujeme celou problematiku z pohledu klinické pediatrie.

Klíčová slova: karyotyp, chromozomy, chromozomové aberace, cytogenetické varianty.

Cytogenetic variants in clinical pediatrics practice

Up to now, karyotyping remains one of the most important genetic diagnostic methods. And in the frame of clinical pediatrics there are many regular indications for this classical type of cytogenetic examination. Pediatricians are also confronted with results of prenatally indicated and performed cytogenetic examinations. However, besides the basic chromosomal abnormalities (numerical or structural aberrations) there are many benign cytogenetic findings – so called chromosomal variants (heteromorphisms). The notation of a karyotype including one of these variants, often without any comments, can be a bit confusing for indicating pediatrician. Or even worse, it can cause inappropriate anxiety in children's parents in case the clinical value of this variant is not properly explained to them. We provide a review of the most common variants and discuss the whole issue from the point of view of clinical pediatrics.

Key words: karyotype, chromosomes, chromosomal abnormalities, cytogenetic variants.

Pediatr. praxi 2012; 13(6): 398–400

Klasické cytogenetické vyšetření představuje jeden ze základních pilířů klinicko-genetické laboratorní diagnostiky. I přes aktuální rozvoj molekulárně genetických a molekulárně cytogenetických metod zůstává v našich podmínkách zhodnocení karyotypu v optickém mikroskopu (obrázek 1) základní cytogenetickou metodou. Zároveň však slouží jako odrazový můstek pro další, podrobnější diagnostiku, případně i s využitím těch nejnovějších metod, jakými jsou například čipové technologie (1). Četnost chromozomových abnormalit u narozených dětí podle údajů Národního registru vrozených vad České republiky v průběhu posledních let mírně klesá – přesto jde stále o relativně časté nálezy. Pokud v roce 1994 byla incidence této skupiny diagnóz 10,41 na 10 000 živě narozených dětí, v roce 2007 to bylo 8,90 na 10 000 živě narozených (2). Zatímco indikace prenatálního cytogenetického vyšetření bývá převážně v kompetenci klinického genetika, v rámci postnatální diagnostiky přichází značné množství indikací přímo od neonatologů a pediatriů. Mezi relativně běžné indikace k vyšetření karyotypu (3) v pediatrické praxi patří zejména:

- Mnohočetné vývojové vady
- Kraniofaciální dysmorfie

- Výrazná svalová hypotonie
- Abnormální a neurčené pohlaví
- Psychomotorická retardace
- Porucha růstu
- Porucha sexuálního vývoje, primární amenorea

Cytogenetické vyšetření tedy indikujeme za účelem vyloučení či potvrzení klinického podezření na určitou chromozomovou patologii. Chromozomové patologie zahrnují dvě velké skupiny odchylek – numerické chromozomové abnormality, u kterých je přítomen abnormální počet chromozomů v karyotypu, a strukturní chromozomové aberace, u kterých je narušena normální struktura chromozomu či chromozomů (3, 4).

Mezi numerické chromozomové abnormality patří (v závorce uveden zápis karyotypu):

- Patauův syndrom (47,XX, +13 nebo 47,XY, +13)
- Edwardsův syndrom (47,XX, +18 nebo 47,XY, +18)
- Downův syndrom (47,XX, +21 nebo 47,XY, +21)
- Turnerův syndrom (45,X)
- Klinefelterův syndrom (47,XXY)
- Syndrom XXX, syndrom tří X (47,XXX)
- Syndrom XYY, syndrom dvou Y (47,XYY)

Obrázek 1. Normální ženský karyotyp (46,XX) – výsledek klasického cytogenetického vyšetření



Mezi strukturní chromozomové aberace patří například delece, duplikace, inverze, Robertsonské či reciproké translokace, isochromozomy apod. (3, 4). Numerické a strukturní varianty se navíc mohou různě kombinovat a doplňovat, případně mohou být přítomné v rámci chromozomového mozaicismu (4).

Kromě těchto jednoznačně patologických nálezů ovšem existuje hned několik typů chromozomových změn, které pro svého nositele nejsou klinicky významné. Tyto změny se označují jako varianty karyotypu nebo také heteromorfizmy (5, 6). Jde o takové varianty, které nezasahují do geneticky významných oblastí

Tabulka 1. Různé typy heterochromatinových variant chromozomu 9 a příklady jejich cytogenetického zápisu (dle 8)

Zápis	Popis varianty
9qh+	zvětšený heterochromatinový úsek chromozomu 9
9qh-	zmenšený heterochromatinový úsek chromozomu 9
9ph	heterochromatin na krátkém ramenu chromozomu 9
9phqh	heterochromatin na krátkém i dlouhém ramenu chromozomu 9
inv(9)(p12q13)	pericentrická inverze chromozomu 9 – zde uvedená varianta je mezi inv(9) nejčastější

Tabulka 2. Základní schéma zápisu cytogenetického nálezu

Počet chromozomů	Gonozomy	Variety a patologie
46	XX nebo XY,	22ps+
Patologie	Zápis	Příklad
Nadpočetný chromozom	+	+21
Chybějící chromozom	-	-13
Delece	del	del(5)(q13q33)
Duplikace	dup	dup(1)(q22q25)
Inverze	inv	inv(9)(p12q13)
Robertsonská translokace	rob	rob(13;21)(q10;q10)
Reciproká translokace	t	t(2;5)(p12;q31)
Ring chromozom	r	r(15)

genomu a jsou v drtivé většině případů zděděné od jednoho z rodičů. Znalost těchto variant je klíčová zejména pro klinického cytogenetika, který příslušný karyotyp hodnotí a který musí rozhodnout, zda jde o změnu patologickou či známou a klinicky nevýznamnou variantu karyotypu (6, 7). Z hlediska indikujícího lékaře (obecně kliniků) je pak důležitá správná interpretace výsledku a správné poučení pacienta (respektive v případě pediatra rodičů pacienta) o výsledku vyšetření a jeho významu (6). Nezastupitelná je zde role klinického genetika, který by měl pacienta nejprve sám syndromologicky vyšetřit, ale následně se také aktivně podílet na interpretaci cytogenetického nálezu (a to jak rodičům pacienta, tak i indikujícímu lékaři). Varianty lidského karyotypu dělíme do několika skupin:

Varianty krátkých ramen akrocentrických chromozomů

V lidském karyotypu nalezneme celkem pět párů akrocentrických chromozomů (4, 8). Jsou to chromozomy skupiny D (číslo 13, 14 a 15) a chromozomy skupiny G (číslo 21 a 22). Akrocentrické chromozomy mají typickou stavbu, neboť mají krátká ramena extrémně krátká (4). Stavba tohoto krátkého ramena je velmi specifická, zahrnuje tyto struktury:

- a) samotné krátké rameno, tvořené převážně repetitivními (opakujícími se) sekvencemi DNA (satelitní DNA)

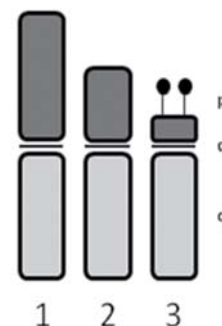
- b) stopka (stalk), obsahující geny pro 18S a 28S ribozomální RNA
- c) vlastní satelit, tvořený opět repetitivními sekvencemi

Právě četné repetitivní sekvence jsou příčinou vysoké variability těchto oblastí (5, 7). Ta zahrnuje jednak varianty ve velikosti jednotlivých částí krátkého ramena (například zvětšené satelity, ps+), tak i varianty v jejich počtu (například vícenásobné satelity, v zápisu pak jako pss). Schematicky jsou tyto varianty zobrazeny na obrázku 3.

Varianty heterochromatinových oblastí lidského genomu

Heterochromatin je ta část chromatinu, ve které neprobíhá transkripce. V lidském karyotypu jsou 4 chromozomy s relativně velkou oblastí konstantně se vyskytujícího (konstitutivního) heterochromatinu – a to chromozomy 1, 9, 16 a Y. Oblasti heterochromatinu jsou tvořeny různými typy repetitivních sekvencí – například α -satelitní DNA, β -satelitní DNA či III-satelitní DNA. Jedná se tedy o nekódující oblasti genomu, které mají navíc tendenci k vysoké variabilitě (4, 5, 7). Nejčastěji se v praxi (9) – i podle našich vlastních zjištění (10) – setkáváme s variantami heterochromatinové oblasti lidského chromozomu 9.

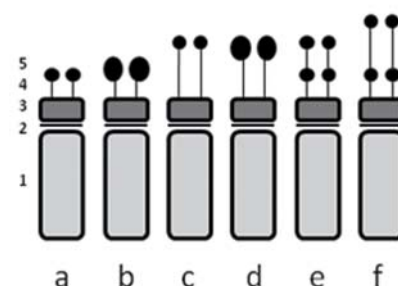
V této oblasti se setkáváme jak s délkovými variantami heterochromatinu, označovanými ja-

Obrázek 2. Typy chromozomů v lidském karyotypu. Podle umístění centromery (c) a vzájemného poměru krátkého (p) a dlouhého (q) raménka rozlišujeme chromozomy metacentrické (1), submetacentrické (2) a akrocentrické (3)

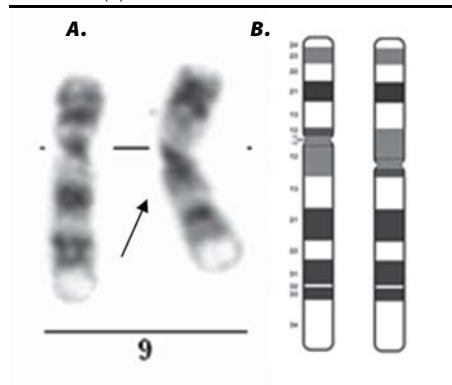
ko 9qh+ (zvětšený heterochromatinový úsek) či 9qh- (zmenšený heterochromatinový úsek), tak i s dalšími typy variant (9, 8). Mezi ně patří například varianta 9ph (přesun heterochromatinu na krátké rameno chromozomu 9), varianta 9phqh (heterochromatin zasahující na krátké i dlouhé rameno) a nakonec pericentrická inverze heterochromatinu chromozomu 9, která je podrobněji zmíněná v dalším oddíle. V přehledu shrnuje tyto varianty tabulka 1.

Inverze chromozomů jako varianty lidského karyotypu

Inverze je strukturní chromozomová abe-race, která vzniká jako následek dvou zlomů na jednom chromozomu, otočením fragmentu o 180° a jeho opětovným připojením v invertované pozici (4). Podle vztahu tohoto invertovaného úseku a centromery chromozomu rozlišujeme inverze pericentrické (invertovaný úsek obsahuje centromeru) a inverze paracentrické (invertovaný úsek centromeru neobsahuje). Inverze chromozomů obecně nejsou klinicky

Obrázek 3. Schéma variability na krátkém ramenu akrocentrického chromozomu. Jednotlivé (sou)části (útvary) jsou označeny čísly (1 – dlouhé rameno, 2 – centromera, 3 – krátké rameno, 4 – stopka, 5 – satelit). Norma (sub a) a varianty: b) ps+ (zvětšené satelity); c) pstk+ (prodloužené stopky); d) pstk+ps+ (zvětšené satelity na prodloužených stopkách); e) pss (dvojitě satelity); f) pspstk+ps (dvojitě satelity s prodlouženou stopkou)

Obrázek 4. Pericentrická inverze chromozomu 9 – inv(9)(p12q13) – jako zástupce heterochromatinových variant lidského karyotypu (chromozom s inverzí je označen šipkou). Mikrofotografie (A) a schéma (B)



bezpečnými variantami. Rizikové jsou jednak z hlediska reprodukce zdravých nositelů těchto aberací v balancovaném (vyváženém) stavu, neboť inverze může vést v průběhu meiosis ke vzniku gamet s nebalancovanou genetickou výbavou (je narušeno standardní množství genetické informace) a v důsledku toho k opakovaným potratům. Nebo jsou rizikové za situace, že nebalancovaná odchylka je sice slučitelná s prenatální ontogenezí a přežitím plodu, ale může u nositele vést ke klinickým projevům po narození (11, 12).

Přesto existují inverze, které nezasahují důležité oblasti genomu a zároveň nenarušují proces meiosis a tím pádem jsou dnes považovány za bezpečné, a to jak pro nositele, tak i pro jeho potomky (12). Nejčastější z těchto inverzí je inverze heterochromatinu na chromozomu 9. Na tomto chromozomu byly popsány inverze různého rozsahu – nejběžnější je inv(9)(p12q13), která se vyskytuje u 1–3 % populace (9, 10); dle našich vlastních zjištění dosahovala incidence inv(9) ve skupině zdravých dětských pacientů před zařazením do programu náhradní rodinné péče 2,43 % (13). Mikrofotografie a schéma této inverze je na obrázku číslo 4.

Za klinicky bezpečné jsou považovány i některé další inverze – z nichž jmenujme alespoň inverze chromozomu 2 a 10 – inv(2)(p11.2q13) a inv(10)(p11.2q21.2), které jsou ovšem již výrazně vzácnější (8, 12).

Interpretace nálezu

Uvedli jsme základní přehled nejčastějších cytogenetických variant, se kterými se může cytogenetik i indikující pediatr ve své praxi setkat. Klinický význam jednotlivých variant je

již po dlouhá léta diskutován – například naše pracoviště se v současné době věnuje epidemiologii a výzkumu možných klinických dopadů pericentrické inverze chromozomu 9 (13) – a pravidelně, s narůstajícím počtem případů též přehodnocován. Varianty považované dlouhodobě za bezpečné by tímto způsobem měly být také interpretovány (6). Pro cytogenetika je z hlediska identifikace a zápisu jednotlivých variant klíčová platná cytogenetická nomenklatura – ISCN (8), podle které jsou tvořeny zápisy normálních i abnormálních cytogenetických nálezů. Uvádění klinicky nevýznamných chromozomových variant v zápisu karyotypu je v posledních letech také předmětem řady odborných diskuzí. Některé odborné společnosti (například European Cytogeneticists Association – ECA) doporučují, aby se tyto varianty ve zprávě určené pro kliniku – indikujícího lékaře vůbec neuváděly (14). Důvod je jednoduchý – předejít interpretační nejistotě u indikujícího lékaře a riziku nepochopení nálezu pacientem (či jeho rodiči/zákonnými zástupci), a tím pádem vzniku neopodstatněné anxiózy. Nicméně v České republice se pediatr může pravidelně se zápisy karyotypu, uvádějícími i chromozomální varianty, setkat, a je proto důležité, aby o existenci těchto „nevýznamných nálezů“ věděl. V případě nejistoty o povaze cytogenetického nálezu je proto klinikům doporučováno kontaktovat cytogenetickou laboratoř s dotazem na klinický význam zjištěného nálezu, případně požádat o pomoc s interpretací nálezu klinického genetika. Rodiče dětského pacienta by nikdy neměli dostat do ruky výsledek karyotypu, kde je nějaká varianta uvedena, bez příslušného písemného či ještě lépe ústního poučení, které by je srozumitelně informovalo o nevýznamnosti identifikované varianty. V opačném případě může dojít ke vzniku zbytečných obav, když rodiče zjistí „abnormalitu“ v karyotypu oproti zápisům zcela normálního karyotypu (tedy 46,XX či 46,XY), který si mohou nalézt (celkem snadno, ale opět bez náležitého poučení) například na internetu.

Závěr

Klasické cytogenetické vyšetření je jednou ze základních vyšetřovacích metod u dítěte s abnormálním vývojem či suspektním fenotypem. Existuje celá řada chromozomálních variant, které nemají z hlediska kliniky pro své nositele žádný význam. Jelikož řada laboratoří uvádí v rámci výsledku vyšetření kompletní zápis

karyotypu – včetně identifikovaných variant – je třeba, aby indikující lékař tento nálezu rodičům pacienta patřičně vysvětlil a předešel tak možným nedorozuměním a neopodstatněné anxióze ze strany rodiny.

Literatura

1. Salman M, Jhanwar SC, Ostrer H. Will the new cytogenetics replace the old cytogenetics? Clin Genet. 2004; 66(4): 265–275.
2. Šípek A, Gregor V, Šípek A, jr., et al. Vrozené vady u narozených dětí v jednotlivých krajích České republiky v období let 1994–2007. Čes. Gynek. 2010; 75(1): 15–40.
3. Sršeň Š, Sršňová K. Základy klinické genetiky a její molekulární podstata. 4. vydání. Martin: Osveta 2005: 445.
4. Gardner RJ, Sutherland GR. Chromosome abnormalities and genetic counseling, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press 2004: 577.
5. Kowalczyk M, Srebnik M, Tomaszewska A. Chromosome abnormalities without phenotypic consequences. J Appl Genet. 2007; 48(2): 157–166.
6. Brothman AR, Schnedier NR, Saikewych I, et al. Cytogenetic heteromorphisms: survey results and reporting practices of giemsa-banded regions that we have pondered for years. Arch Pathol Lab Med. 2006; 130(7): 947–949.
7. Wyandt HE, Tonk VS, et al. Atlas of human chromosome heteromorphisms. Dordrecht: Kluwer Academic Press 2004: 3000.
8. Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ. ISCN 2009: An international system for human cytogenetic nomenclature (2009). Basel: Karger 2009: 138.
9. Starke H, Seidel J, Henn W, et al. Homologous sequences at human chromosome 9 bands p12 and q13–21.1 are involved in different patterns of pericentric rearrangements. Eur J Hum Genet. 2002; 10(12): 790–800.
10. Šípek A jr., Mihalová R, Panczak A, et al. Pokročilý věk matky jako indikace k provedení amniocentézy – zhodnocení karyotypu u 418 vyšetřených plodů. Čes. Gynek. 2011; 76(3): 230–234.
11. Balíček P. Paracentrické inverze lidských chromozómů a jejich rizika. Čas. lék. čes. 2004; 143(1): 35–38.
12. Balíček P. Pericentrické inverze lidských chromozómů a jejich rizika. Čas. lék. čes. 2001; 140(2): 38–42.
13. Šípek A jr., Panczak A, Mihalová R, et al. Pericentric inversion of chromosome 9 in medical genetics and clinical counselling. Eur J Hum Genet. 2010; 18(Suppl 1): 122.
14. E.C.A. Permanent Working Group for Cytogenetics and Society, Cytogenetic Guidelines and Quality Assurance: A common European framework for quality assessment for constitutional and acquired cytogenetic investigations. 2007, 33 s., dostupné z WWW: [http://www.biologia.uniba.it/eca/NEWSLETTER/NS-17/Guidelines.pdf].

Článek doručen redakci: 19. 4. 2012

Článek přijat k publikaci: 13. 8. 2012

MUDr. Antonín Šípek, jr.

Ústav biologie a lékařské genetiky
1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Všeobecné fakultní nemocnice
Albertov 4, 128 01 Praha 2
antonin.sipek@lf1.cuni.cz

