



Genetyczne przyczyny poronień samoistnych – aktualny stan wiedzy

mgr Katarzyna Sobecka
Zakład Genetyki Medycznej
Zespół Pracowni Cytogenetyki IMiD

Poronienie (łac. abortus)

- Przedwczesne zakończenie ciąży trwającej krócej niż 22 tygodnie (od 23. tyg. mówi się o porodzie przedwczesnym) wskutek wydalenia obumarłego zarodka lub płodu.
- Według kryteriów WHO poronieniem nazywamy utratę płodu o masie 500 g lub niższej (do 22 tygodnia ciąży). Strata ciąży powyżej tego tygodnia określana jest jako poród martwy.



Podział poronień:

- **Poronienie zagrażające** – oddzielenie się jaja płodowego na niewielkim odcinku, objawia się zwykle bezbolesnym krwawieniem z macicy i czynnością skurczową o niewielkim nasileniu. Rozpoznaje się je przy każdym krwawieniu pochwowym w okresie określonym w definicji poronienia. Przy leczeniu zachowawczym objawy niekiedy przechodzą, jednak możliwości leczenia są ograniczone. Jeśli objawy nasilają się, rokowanie dla ciąży jest złe.
- **Poronienie w toku, nieodwracalne** – oddzielenie się jaja płodowego na większym odcinku, któremu towarzyszy skracanie się szyjki i rozwarcie jej ujścia wewnętrznego. Poronienie w toku rozpoznawane jest w każdym przypadku pęknięcia błon płodowych przed 22. tygodniem ciąży. Objawia się obfitym krwawieniem i bólem o różnym nasileniu. Postępowaniem z wyboru jest wyłyżeczkowanie jamy macicy.
- **Poronienie zatrzymane, chybione** – obumarcie jaja płodowego, po którym nie nastąpiło wydalenie obumarłego płodu w okresie 8 tygodni. Jedynym objawem jest brak powiększania się macicy przez kilka tygodni. Postępowaniem z wyboru jest farmakologiczne indukowanie czynności skurczowej i łyżeczkowanie jamy macicy.
- **Poronienie niepełne, niekompletne** – obumarcie jaja płodowego, po którym w jamie macicy pozostały resztki utkania łożyskowego.

Podział poronień cd:

- **Poronienie septyczne** – poronienie przebiegające z wykładnikami stanu zapalnego narządu rodniego. Stwierdzenie gorączki towarzyszącej poronieniu jest wskazaniem do zastosowania antybiotykoterapii.
- **Poronienie szyjkowe** – roniące się jajo płodowe znajduje się w szyjce macicy, ponieważ zamknięte jest jej ujście zewnętrzne.
- **Puste jajo płodowe**
- **Poronienie nawykowe, nawracające** – trzecie i każde następne kolejne poronienie.
- **Poronienie zupełne** – postać poronienia w której wydaleniu z jamy macicy uległo całe jajo płodowe (płód i kosmówka).

Przyczyny poronienia występującego w I trymestrze ciąży (wczesne) :

- czynniki genetyczne - ok. 50-60% zarodków po poronieniu jest obciążonych aberracją chromosomową,
- zaburzenia trofoblastu,
- wady anatomiczne macicy (zrosty wewnątrzmaciczne).

Przyczyny poronienia występującego w II trymestrze ciąży (późne) :

- przyczyny poronień w I trymestrze,
- poważne zakażenia (różyczka, opryszczka, cytomegalia, odra, toksoplazmoza),
- czynniki immunologiczne,
- choroby przewlekłe matki (cukrzyca, niedoczynność tarczycy),
- choroby wirusowe i bakteryjne,
- niewydolność cieśniowo-szyjkowa,
- niewydolność fazy lutealnej,
- czynniki autoimmunologiczne, zespół antyfosfolipidowy,
- nadużywanie leków,
- używki (palenie papierosów, narkotyki),
- złe odżywianie,
- zespół policystycznych jajników,
- wysoki poziom stresu.

- Czynniki genetyczne należą do najczęstszych przyczyn niepowodzeń ciąży.
- Największą grupę stanowią aberracje chromosomowe, które identyfikuje się w około **50%** przypadków utraty ciąży w pierwszym trymestrze
- Przyczyną niepowodzenia mogą być także:
 1. choroby jednogenowe zarodka/płodu,
 2. disomia jednorodzicielska,
 3. polimorfizmy i mutacje w genach, związane z różnymi procesami zachodzącymi w komórkach, takimi jak na przykład: immunosupresja, apoptoza, angiogeneza, czy przekazywanie sygnałów w komórce.

Aberracje liczbowe i strukturalne chromosomów

- Ocenia się, że od około 50% niepowodzeń pierwszego trymestru ciąży związanych jest z aberracjami chromosomowymi występującymi u rozwijającego się zarodka/płodu.
- Wśród nich największą grupę stanowią aberracje liczbowe chromosomów, głównie trisomie chromosomów autosomalnych, monosomia chromosomu X oraz poliploidie.
- Najczęstszą jest trisomia chromosomu 16, a następnie trisomia chromosomu 22. Do równie często występujących należą również trisomie chromosomów: 13, 15, 18, 21. Rzadko spotykane są trisomie chromosomów: 5, 11, 17 i 19
- Obserwuje się także występowanie podwójnych trisomii (0,7%), najczęściej chromosomów 21, 18, 16, 13, 8, 2 i 15 oraz chromosomu X. Do utraty ciąży dochodzi najczęściej między 8 a 9 tygodniem jej trwania, a średnia wieku matki to najczęściej 39 lat.
- Aberracje strukturalne u zarodka/płodu są przyczyną około 2% niepowodzeń ciąży. Wśród aberracji strukturalnych wyróżniamy: delecje, duplikacje, translokacje i inwersje. Około 50% aberracji strukturalnych, przede wszystkim delecji i duplikacji powstaje *de novo* podczas gametogenezy. Drugą część stanowią przypadki, w których aberracja zostaje odziedziczona od któregoś z rodziców, najczęściej w formie niezrównoważonej



Choroby jednogenowe, mutacje i polimorfizmy genowe

- Choroby jednogenowe najczęściej powodują utratę późnych ciąż – w drugim i trzecim trymestrze oraz zgonów okołoporodowych np. alfa-talasemia
- U płodów z delecją wszystkich czterech genów alfa-globiny pojawia się patologiczna hemoglobina Barta, powodując wewnątrzmaciczną niedokrwistość, obrzęk płodu oraz utratę ciąży lub zgon okołoporodowy.
- Dzieje się tak w przypadku, gdy oboje rodzice są nosicielami pełnej delecji obu genów alfa-globiny w jednym chromosomie. Także dystrofia miotoniczna u kobiet może zwiększać ryzyko niepowodzeń ciąży, aczkolwiek obserwuje się odmienną częstość niepowodzeń w przypadku dystrofii typu 1 i typu 2.

Chromosom X

- choroby dziedziczące się w sposób sprzężony z X dominujący mogą być przyczyną utraty płodów męskich.
- przykłady:
 - 1) wrodzone nietrzymanie barwnika (XD, mutacja w genie *IKBKG* w locus Xq28, kodującym aktywator jądrowego czynnika transkrypcyjnego kappa B. U płci męskiej wada jest zazwyczaj letalna. Istotą choroby jest niezdolność komórek podstawnych skóry do gromadzenia melaniny, która gromadzi się w skórze właściwej i w makrofagach indukując stan zapalny),
 - 2) zespół Retta (gen *MECP2*, locus Xq28. Szereg zaburzeń neurorozwojowych, które w większości wypadków prowadzą do znacznej i głębokiej niepełnosprawności ruchowej oraz znacząco ograniczają możliwość komunikacji z otoczeniem),
 - 3) zespół Aicardiego (zespół wrodzonych wad genetycznych charakteryzujący się częściowym lub całkowitym brakiem ciała modelowatego, obecnością zmian w siatkówce i napadów drgawkowych),
 - 4) letalne dysplazje kostne u płodu, takie jak dysplazja tanatoforyczna oraz wrodzona łamliwości kości typu II.



Jednorodzicielska disomia u zarodka/płodu (UPD)

- Występowanie dwóch chromosomów jednej pary, pochodzących od tego samego rodzica najczęściej jest tłumaczone, jako swego rodzaju „ratunek” embrionu przed letalnymi skutkami trisomii.
- Ze względu na piętnowanie genów, dla prawidłowego funkcjonowania organizmu ważne jest nie tylko to, iż mamy dwa chromosomy jednej pary, ale także to, czy pochodzą od jednego i drugiego rodzica.
- Przykładem wpływu piętnowania genomowego na rozwój człowieka mogą być zespoły: Angelmana i Pradera-Willego. W niepowodzeniach ciąży znane są przypadki występowania disomii jednorodzicielskiej chromosomu pary 21 (Simpson, 2007).
- Typy disomii
 - 1) izodisomia jednorodzicielska (UPIS) – oba chromosomy są identyczne (prowadzi do niej nondysjunkcja w mejozie II lub w mitozie)
 - 2) heterodisomia jednorodzicielska (UPHD) – chromosomy różnią się zestawem alleli (prowadzi do niej nondysjunkcja w mejozie I)

Inaktywacja chromosomu X u kobiet

- Zjawisko epigenetyczne, które prowadzi do wyciszenia transkrypcji w celu uzyskania równej dawki genu. Ekspresja cząsteczki RNA Xist (ang. X-inactive specific transcript) rozpoczyna proces XCI poprzez powlekanie nieaktywnego chromosomu i wywołanie zmian chromatyny, które wyłączają transkrypcję genów.
- Nielosowa inaktywacja może oznaczać występowanie mutacji genowych w chromosomie X.
- Może być wynikiem małej liczby komórek prekursorowych w trakcie inaktywacji, co z kolei wpływa na słabszy rozwój zarodka i może zakończyć się utratą ciąży.
- Może mieć także związek z ograniczoną rezerwę oocytów w jajniku, co wiąże się ze zwiększonym ryzykiem trisomii

DNA mitochondrialne

- Mutacje w DNA mitochondrialnym mogą mieć również związek z niepowodzeniami ciąży.
- Dodatkowo zmniejszona liczba mitochondriów oraz uszkodzenia DNA mitochondrialnego mogą być oznaką obniżonej jakości oocytów a tym samym wpływać na powodzenie procesu zapłodnienia



Diagnostyka genetyczna niepowodzeń ciąży

- Ze względu na wieloczynnikowy charakter niepowodzeń ciąży, diagnostyka przyczyn utraty ciąży może być długotrwała i wieloetapowa.
- Metody skriningowe powinny być odpowiednio dobrane, aby pomagać w identyfikacji przyczyn niepowodzeń, pozwolić na ocenę ryzyka wystąpienia kolejnego niepowodzenia oraz w określonych przypadkach pozwolić na zastosowanie skutecznej terapii.
- Diagnostyka genetyczna niepowodzeń ciąży opiera się na identyfikacji genetycznych przyczyn niepowodzeń ciąży, identyfikacji rodzin podwyższonego ryzyka genetycznego oraz prognostycznej oceny sytuacji.
- Według rekomendacji Polskie Towarzystwo Ginekologów i Położników, wskazaniem do przeprowadzenia diagnostyki genetycznej u par z niepowodzeniami ciąży jest wystąpienie co najmniej dwóch poronień samoistnych u pary a także wystąpienie martwego porodu lub zgonu okołoporodowego dziecka (PTG, 2012).

Wywiad rodzinny i analiza rodowodu

- W przypadku par z niepowodzeniami ciąży, w wywiadzie zwraca się szczególną uwagę na sytuacje, które mogą mieć związek z utratą ciąży. Zbiera się informacje dotyczące stanu zdrowia pacjentów, z uwzględnieniem wad anatomicznych macicy u kobiety, a także zaburzeń hormonalnych, BMI, chorób o charakterze autoimmunologicznym, chorób związanych z zaburzeniami krzepnięcia oraz chorób przebytych w trakcie ciąży.
- Ważna jest również ocena dysmorfologiczna obojga pacjentów, informacje dotyczące ewentualnej niepełnosprawności intelektualnej, chorób genetycznych występujących w rodzinie, długotrwałego narażenia na działanie czynników teratogennych.
- Istotną informacją są również przypadki niepowodzeń ciąży, które miały miejsce u innych członków rodziny
- Analiza rodowodu u par z niepowodzeniami ciąży może pomóc w ocenie sytuacji, ujawnić rodzinne występowanie niepowodzeń ciąży o charakterystycznym sposobie dziedziczenia lub wykazać bliskie pokrewieństwo między partnerami



Badania cytogenetyczne

- Analiza kariotypu obojga partnerów to podstawowy test genetyczny, który proponowany jest parom z niepowodzeniami ciąży.
- Analiza kariotypu przeprowadzana jest w celu wykluczenia lub identyfikacji nosicielstwa aberracji strukturalnej zrównoważonej (translokacji lub inwersji).
- Oprócz analizy kariotypu obojga partnerów, drugim, coraz częściej rekomendowanym badaniem cytogenetycznym jest badanie trofoblastu po utracie ciąży
- Ze względu na wysoki udział aberracji chromosomowych w niepowodzeniach ciąży pierwszego trymestru, badanie pozwala ustalić przyczynę niepowodzeń w około połowie przypadków. Jest to szczególnie ważne badanie wśród par z prawidłowym kariotypem, kiedy jedynie wgląd w materiał genetyczny zarodka/płodu pozwala stwierdzić, że przyczyną poronienia była aberracja chromosomowa, która wystąpiła u zarodka/płodu *de novo* jako błąd gametogenezy.
- Dynamiczny rozwój technik diagnostycznych sprawił, iż obecnie możliwe jest stosowanie różnego typu technik w celu identyfikacji aberracji chromosomowych. Techniki te zostały omówione poniżej.



Mikromacierze aCGH



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

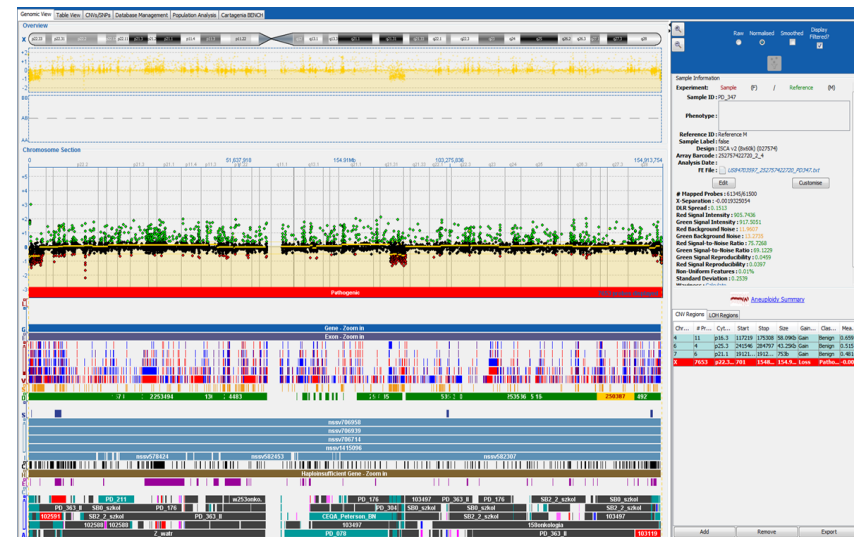
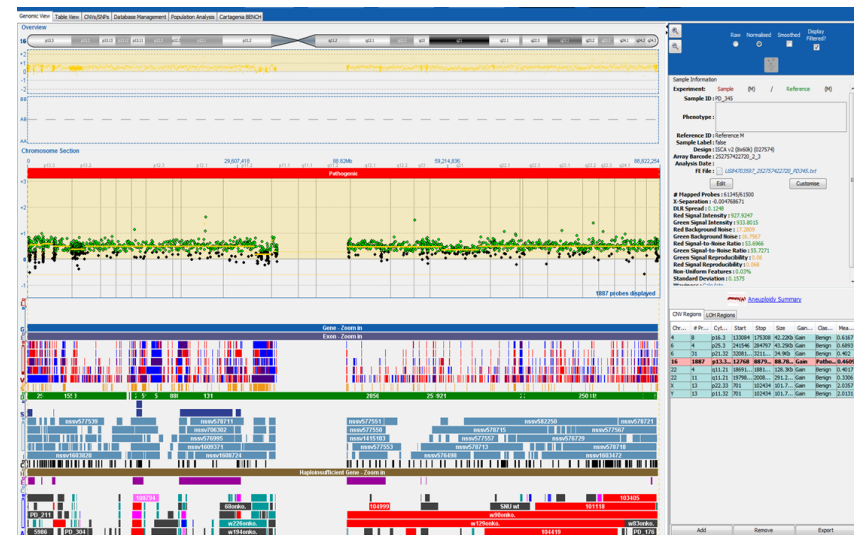


Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl



Rapid-FISH



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



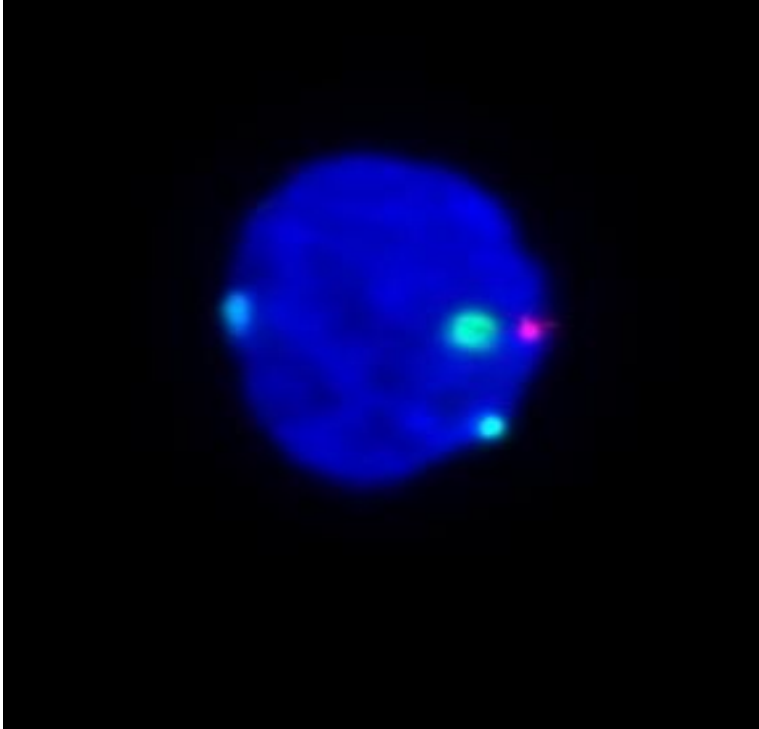
Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny

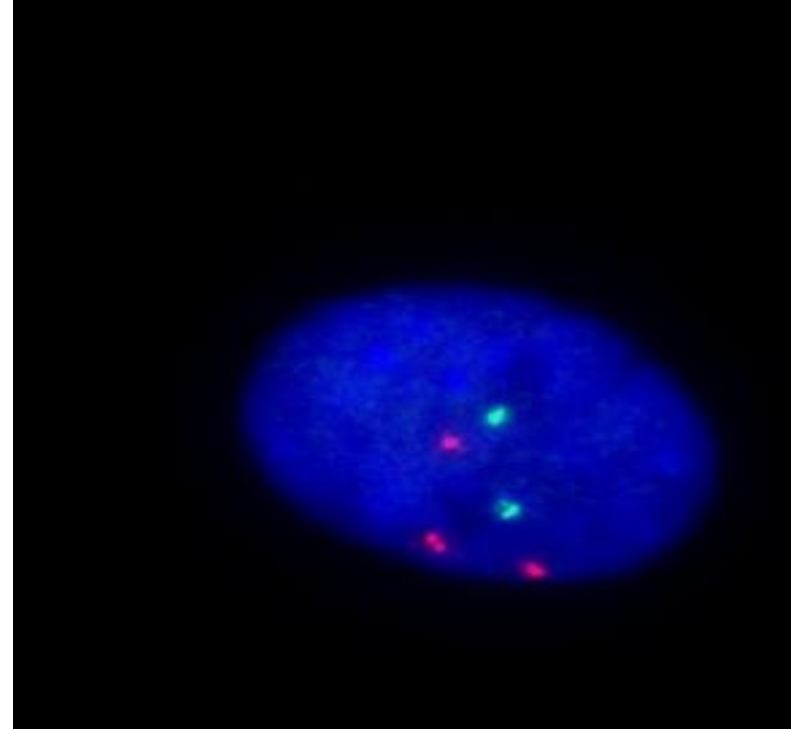


edu-metgen.imid.med.pl

TRISOMIA CHROMOSOMU 21
47, XY + 21

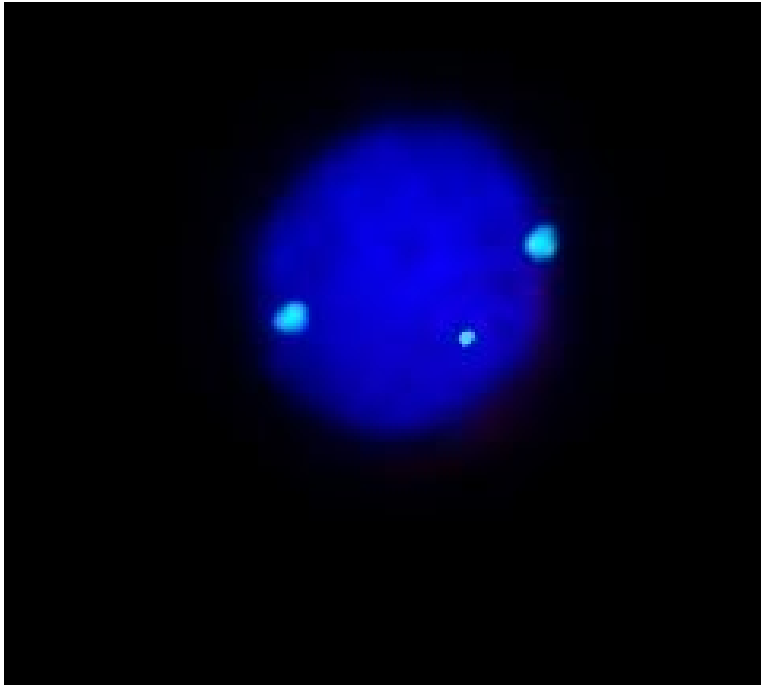


Kolor niebieski: chromosom 18, czerwony: Y, zielony: X

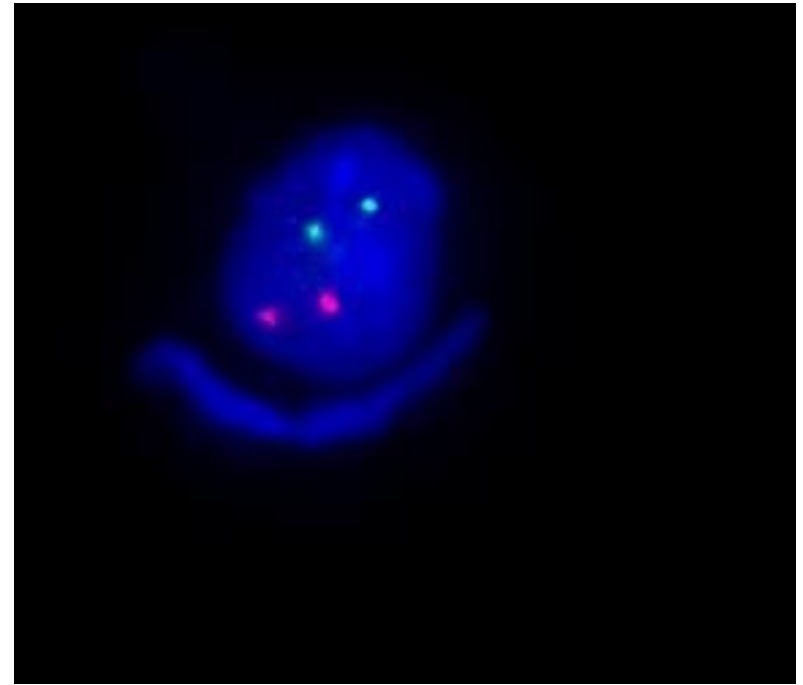


Kolor czerwony chromosom: 21, zielony: 13

MONOSOMIA CHROMOSOMU X



Kolor niebieski: chromosom 18, zielony: X



Kolor czerwony chromosom: 21, zielony: 13



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



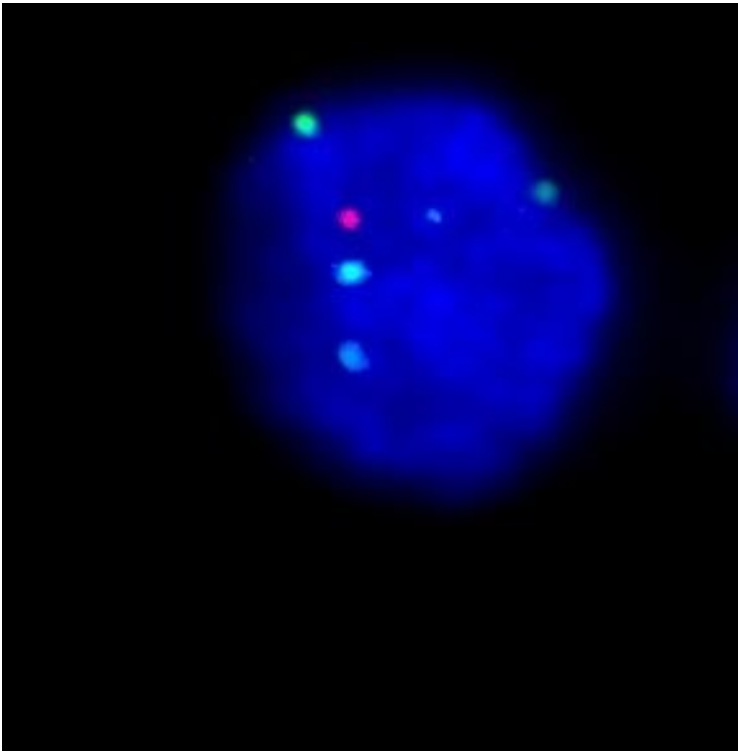
Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny

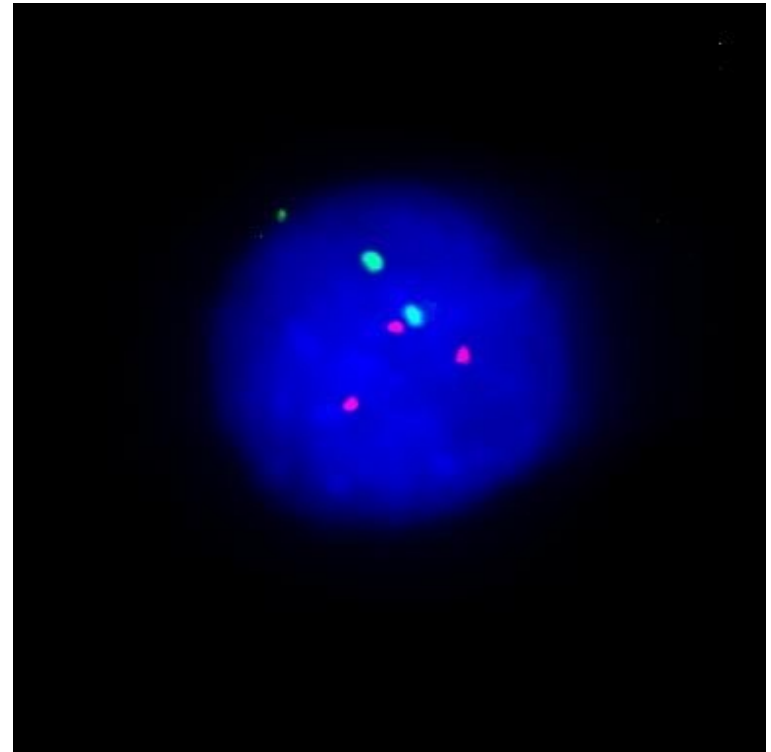


edu-metgen.imid.med.pl

TRIPLOIDIA CHROMOSOMOWA



Kolor niebieski: chromosom 18, czerwony: Y, zielony: X



Kolor czerwony chromosom: 21, zielony: 13



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl

Zapraszam do udziału w projekcie naukowym Narodowego Centrum Nauki pt.:

”Zastosowanie metody porównawczej hybrydyzacji genomowej do mikromacierzy (aCGH) do identyfikacji submikroskopowych aberracji chromosomowych i genów letalnych w materiale z poronień samoistnych”.

- Kryteria kwalifikacji pacjentek:
 1. **występowanie poronień nawykowych (minimum 3)**
 2. **trzecie poronienie po 8 tygodniu ciąży**
- W celu wykonania badania genetycznego konieczne będzie zabezpieczenie materiału z poronienia (wyłącznie trofoblastu lub fibroblastów płodu) w 0.9% NaCl (soli fizjologicznej)
- Z pobranego materiału będzie izolowany DNA, który następnie przechowywany będzie w laboratorium do czasu wykonania specjalistycznych badań molekularnych.
- Rozdzielczość mikromacierzy wynosi **~24 kpz.**
- Gdy w materiale z poronienia stwierdzona będzie patogenna aberracja chromosomowa wskazane będzie wykluczenie nosicielstwa aberracji u rodziców
- Kontakt: mgr Katarzyna Sobecka, e-mail katarzyna.sobecka@imid.med.pl

Instytut Matki i Dziecka w Warszawie, ul. Kasprzaka 17a, tel. (22) 32 77 191

DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl