

ANOMALII CROMOZOMIALE UMANE

Aspecte genetice în diagnosticul prenatal

**ANOMALII CROMOZOMIALE UMANE: ASPECTE GENETICE
ÎN DIAGNOSTICUL PRENATAL**

Daniela Neagoș, Laurențiu Bohîlțea, Ruxandra Crețu
Copyright © 2013 Editura ALL

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

NEAGOȘ, DANIELA

**Anomalii cromozomiale umane: aspecte genetice în
diagnosticul prenatal** / Daniela Neagoș, Laurențiu Bohîlțea,
Ruxandra Crețu. – București: Editura ALL, 2013

Bibliogr.

ISBN 978-606-587-142-7

I. Bohîlțea, Laurențiu Camil

II. Crețu, Ruxandra

575.116

Toate drepturile rezervate Editurii **ALL**.

Nicio parte din acest volum nu poate fi copiată

fără permisiunea scrisă a Editurii **ALL**.

Drepturile de distribuție în străinătate aparțin în exclusivitate editurii.

All rights reserved. The distribution of this book outside

Romania, without the written permission of **ALL**,

is strictly prohibited.

Copyright © 2013 by **ALL**.

Editura **ALL**: Bd. Constructorilor nr. 20A, et. 3,

sector 6, cod 060512 – București

Tel.: 021 402 26 00

Fax: 021 402 26 10

Distribuție: Tel.: 021 402 26 30; 021 402 26 33

Comenzi: comenzi@all.ro

www.all.ro

Redactare: Bianca Vasilescu

Tehnoredactare: Liviu Stoica

Design copertă: Alexandru Novac

Daniela Neagoș

Laurențiu Bohîlțea

Ruxandra Crețu

ANOMALII CROMOZOMIALE UMANE

Aspecte genetice în diagnosticul prenatal

ALL

PREFAȚĂ

Genetica, al cărei potențial depășește imaginația noastră, a devenit una dintre cele mai fascinante realități ale lumii înconjurătoare. Multitudinea descoperirilor genetice a modernizat știința despre viață și a revoluționat modul în care gândim, acționăm și ne tratăm. Dintre aplicațiile geneticii umane, un deosebit progres s-a înregistrat în perfecționarea testelor de diagnostic prenatal, practică ce „alimentează mitul copilului perfect”. Diagnosticul prenatal permite depistarea precoce a anomaliilor congenitale și reprezintă un act medical complex, înalt informativ, în care geneticianul are un rol esențial în evaluare, diagnostic și sfat genetic.

Lucrarea se adresează studenților, biologilor, biochimiștilor, medicilor, specialiștilor în genetică pentru a deveni posesorii unui amplu spectru de cunoștințe fundamentale, actualizate, în domeniul atât de fascinant al geneticii. Din punct de vedere practic, lucrarea arată că tratarea aspectelor genetice prin tehnici de laborator este realizabilă și că pentru acordarea unui diagnostic într-o anomalie genetică trebuie să știi ce recomanzi și cum interpretezi.

CUPRINS

CAPITOLUL 1

Introducere. Aspecte generale legate de sarcină	11
---	----

CAPITOLUL 2

Embriogeneza normală și patologică	17
2.1. Embriogeneza normală.....	17
2.1.1. Perioada preembrionară	17
2.1.1.1. Gametogeneza	17
2.1.1.2. Spermatogeneza	18
2.1.1.3. Ovogeneza.....	20
2.1.1.4. Fecundația	21
2.1.2. Perioada embrionară	22
2.1.3. Perioada fetală	23
2.2. Embriologia patologică – avortul spontan	24
2.2.1. Cauzele care stau la baza avortului spontan	25
2.2.2. Metode de investigare a avorturilor spontane	30

CAPITOLUL 3

Bazele genetice ale investigațiilor prenatale.....	33
3.1. Principii generale de citogenetică.....	33
3.2. Organizarea materialului genetic.....	34
3.3. Cariotipul uman normal	38
3.4. Patologia genetică umană	43
3.4.1. Aberații cromozomiale numerice	43
3.4.1.1. Poliploidia	43
3.4.1.2. Aneuploidia	44
3.4.2. Aberații cromozomiale structurale	46
3.4.2.1. Aberațiile cromozomiale structurale neechilibrate și sindroame asociate	46
3.4.2.2. Aberații cromozomiale structurale echilibrate și sindroame asociate	52

CAPITOLUL 4

Malformații congenitale și principalele sindroame cromozomiale	57
4.1. Istoricul malformațiilor	57
4.2. Clasificarea malformațiilor	59
4.3. Principalele sindroame cromozomiale	60
4.3.1. Sindroame autozomale	61
4.3.2. Sindroame gonozomale	63

CAPITOLUL 5

Teratogeneza	67
5.1. Aspecte generale	67
5.2. Tipuri de anomalii congenitale	69
5.3. Clasificarea factorilor teratogeni	70
5.3.1. Factorii genetici	70
5.3.2. Factorii ecologici	72
5.3.2.1. Factorii fizici	72
5.3.2.2. Factorii mecanici	73
5.3.2.3. Factorii chimici și medicamentoși	73
5.3.2.4. Factorii materni	80
5.4. Mecanismele teratogene	81
5.5. Principiile teratologiei clinice	84

CAPITOLUL 6

Screening-ul și diagnosticul prenatal	87
6.1. Screening-ul prenatal	87
6.1.1. Tipuri de screening prenatal	89
6.1.1.1. Screening-ul pentru defecte de tub neural	89
6.1.1.2. Screening-ul în primul trimestru de sarcină (bitestul)	91
6.1.1.3. Screening-ul în al doilea trimestru de sarcină	94
6.1.1.4. Screening-ul integrat serologic	95
6.1.1.5. Ecografia	95
6.2. Metode statistice aplicate în screening-ul prenatal	99
6.3. Diagnosticul citogenetic prenatal	100
6.3.1. Metode de diagnostic prenatal	101
6.3.1.1. Amniocenteza standard	101
6.3.1.2. Biopsia vilozităților coriale	102
6.3.1.3. Cordocenteza	102

CAPITOLUL 7

Tehnici de investigare a genomului uman și aplicațiile lor în diagnosticul prenatal: prezent și perspective	107
7.1. Tehnici de citogenetică clasică – bandarea cromozomială	107
7.2. Tehnici de citogenetică moleculară	110

7.2.1. FISH – hibridizare fluorescentă în situ (<i>fluorescence in situ hybridization</i>)	110
7.2.2. Hibridizarea genomică comparativă (<i>comparative genomic hybridization</i> , CGH)	113
7.3. Tehnici de genetică moleculară	113
7.3.1. PCR (<i>polymerase chain reaction</i> , reacția de polimerizare în lanț)	114
7.3.2. QF-PCR (<i>quantitative fluorescence polymerase chain reaction</i>)	115
7.3.3. qRT-PCR (<i>quantitative real-time PCR</i> , PCR cantitativ în timp real)	116
7.3.4. MLPA (<i>multiplex ligation-dependent probe amplification</i>)	117
7.3.5. Hibridizarea genomică comparativă bazată pe microarray (<i>array comparative genomic hybridization</i> , aCGH)	117

CAPITOLUL 8

Polimorfisme ADN asociate metabolismului folatului și riscul de apariție a sindromului Down	121
8.1. Date generale	121
8.2. Deficiențele acidului folic în sarcină	124
8.3. Calea metabolică a folatului	125
8.4. Gene implicate în metabolismul folatului	127
8.5. Polimorfismele ADN în populația umană	129
8.6. Polimorfismele genelor implicate în metabolismul folatului și riscul de apariție a sindromului Down	133

CAPITOLUL 9

Sfatul genetic	139
9.1. Consilierea și sfatul genetic	139
9.2. Aspecte etice în diagnosticul prenatal	143

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	147
-------------------------------------	-----

PLANȘE COLOR	153
---------------------------	-----

CAPITOLUL 1

Introducere.

Aspecte generale legate de sarcină

Sarcina este o stare fiziologică a femeii, urmărită cu mare atenție de către medic, care trebuie să respecte anumite protocoale în vederea asigurării că niciun aspect al acestui act medical nu este neglijat. Situațiile în care sarcina nu se mai încadrează în limitele fiziologicului corespund sarcinilor cu risc, a căror depistare ar trebui făcută încă de la prima consultație prenatală. Femeile însărcinate pot fi grupate în două categorii: gravide cu sarcină fiziologică și cu factori de risc minori și gravide cu risc obstetrical crescut.

Consultația prenatală, de tip standard (adresată tuturor gravidelor) sau diferențiată (pentru gravidele cu risc), trebuie să cuprindă trei etape de profilaxie: primară (de evitare a îmbolnăvirii), secundară (de diagnostic și tratament) și terțiară (de evitare a complicațiilor și agravărilor).

Consultația în trimestrul I de sarcină. Prima consultație prenatală constă în preluarea corectă a femeii gravide și depistarea eventualelor factori de risc. Medicul trebuie să întocmească fișa medicală de urmărire a gravidei și să respecte etapele consultației primare care constau în: anamneză, examen clinic general, examen obstetrical, investigații paraclinice și primele recomandări făcute gravidei.

Consultația în trimestrul al II-lea de sarcină constă în: anamneză, examen clinic general, urmărirea curbei ponderale, măsurarea înălțimii fundului uterin și raportarea la vârsta gestațională, măsurarea circumferinței abdominale, urmărirea apariției primelor mișcări fetale și a bătailor cordului, măsurarea pulsului și a tensiunii arteriale, și calcularea coeficientului de risc al nașterii premature. Prin această consultație se urmărește prevenirea anemiei, depistarea și combaterea hipertensiunii arteriale indusă de sarcină,

combaterea întreruperii intempestive a cursului sarcinii (avort tardiv, naștere prematură).

Consultația în trimestrul al III-lea de sarcină constă în: urmărirea curbei ponderale, măsurarea tensiunii arteriale, măsurarea înălțimii fundului uterin și a circumferinței abdominale, urmărirea bătăilor cardiace, identificarea edemelor, calcularea riscului de naștere prematură, investigații paraclinice (serologie, examenul secreției vaginale, ecografia), profilaxia rahitismului nou-născutului (săptămânile 32-36 de sarcină), vaccinarea antitetanică, dozări de anticorpi în caz de incompatibilitate ABO/Rh, pregătirea psihologică pentru naștere. Prin acest tip de consultație se urmărește: prevenirea patologiei în sarcină, stabilirea datei concediului prenatal, stabilirea datei probabile a nașterii și a prognosticului nașterii, și pregătirea fizică/psihică pentru naștere.

Sarcina reprezintă un proces rezistent și vulnerabil în același timp: rezistent deoarece din majoritatea sarcinilor duse la termen rezultă nou-născuți vii cu un complement cromozomial normal și vulnerabil deoarece o parte dintre sarcinile incipiente prezintă cariotip anormal, în mare parte fiind eliminate prin selecție naturală în funcție de amplitudinea modificării materialului genetic.

Patologia sarcinii reprezintă unul dintre domeniile de interes în medicina modernă, în ansamblul său, modificările genetice ocupând o poziție aparte. Moștenite sau apărute de novo, impactul modificărilor genetice variază de la benign la letal. Pe plan internațional, în trecut, maladiile ereditare erau identificate abia după nașterea copilului din cauza lipsei căilor și mijloacelor de evaluare fără risc (teste de screening) a embrionului și fătului. De aici, și necesitatea de a le detecta cât mai timpuriu posibil în vederea unor decizii pertinente și adecvate asupra sarcinii.

Ritmul rapid al progreselor făcute de genetică și aplicarea acesteia în domeniul patologiei umane au impus cunoașterea principiilor de genetică medicală cu o mare importanță în metodele de diagnostic, tratament și mai ales de profilaxie a bolilor.

În prezent, în screening-ul și diagnosticul prenatal se utilizează o baterie de teste ce pot detecta o serie de aberații cromozomiale, numerice și structurale.

Diagnosticul anomaliilor genetice compatibile cu supraviețuirea postnatală trebuie realizat prenatal, însă nu este posibil și nu trebuie ca toți feții să fie investigați genetic direct, ci doar cei cu risc. Prin metode noninvazive se pot diferenția sarcinile cu risc genetic mare, care trebuie investigate

genetic direct, de sarcinile cu risc genetic mic, care nu trebuie investigate genetic direct.

Au fost depistate anomalii cromozomiale, într-un număr semnificativ, care necesită spitalizări îndelungate și tratament adecvat, ceea ce determină familia și societatea să suporte costuri crescute. De aceea, informarea corectă a pacienților și a cuplurilor și urmărirea riguroasă a sarcinilor reduc numărul copiilor cu anomalii congenitale, prevenind astfel adevărate drame.

Colegiul Ginecologilor din SUA recomandă ca femeilor de toate vârstele să li se ofere posibilitatea de a face teste în timpul primului și celui de-al doilea trimestru de sarcină. Multe femei optează pentru testele preliminare, apoi iau o decizie privind testarea unui diagnostic pe baza rezultatelor testelor preliminare.

Fiecare viitor părinte, în circumstanțe asemănătoare, poate avea păreri diferite despre riscurile pe care le consideră acceptabile și poate ajunge la concluzii diferite. Nu există o anume decizie corectă: unele femei aleg direct testarea unui anume diagnostic și altele decid să nu facă niciun fel de test, fiind ferm hotărâte să nu treacă printr-o procedură care mărește riscul pierderii sarcinii, mai ales dacă rezultatele analizelor nu le vor afecta decizia de a continua sarcina. Cele care aleg testarea invazivă știu destul de sigur deja că va trebui să întrerupă sarcina în cazul detectării unei probleme grave, dar nu toate aleg varianta avortului terapeutic în cazul unui rezultat nefavorabil.

Femeile care hotărăsc să facă amniocenteza, chiar dacă decid să ducă sarcina la termen indiferent de rezultat, doresc să afle din timp dacă nou-născutul va avea nevoi speciale, pentru că acest lucru le va ajuta să se pregătescă emoțional pentru provocările care le așteaptă. În anumite cazuri, ar putea decide să aleagă un spital mai bine dotat și cei mai buni specialiști.

Alterările materialului genetic cu potențial patogen până la letal sunt descrise, în majoritate, ca diverse sindroame cu un imens impact asupra indivizilor și societății. În ceea ce privește nivelul la care se produc, aceste alterări pot afecta de la o singură genă până la cromozomi întregi.

Departe de a fi cuprinzătoare, aberațiile detectabile acoperă totuși cauzele celor mai frecvente sindroame și anume: poliploidia și aneuploidia dintre afecțiunile cromozomiale numerice și, respectiv, o serie de aberații structurale. Până în prezent, cel mai frecvent sindrom cauzat de o trisomie autozomală este sindromul Down (trisomia 21, SD).

Pretutindeni în lume, o parte importantă din viața laboratoarelor de genetică este consacrată copiilor cu SD și părinților care au copii cu acest sindrom comun, cunoscut în medicină de ceva mai mult de un secol. Această

anomalie este caracterizată de prezența cromozomului 21 în triplu exemplar. În majoritatea cazurilor, cromozomul suplimentar este cauzat de nondisjuncție, adică de eșecul separării cromozomilor în timpul meiozei. Nondisjuncția este maternă în aproximativ 95% dintre cazuri, apare mai frecvent în meioza redukțională, în perioada matură a ovocitului, și este strâns corelată cu vârsta maternă, singurul factor dovedit până în prezent că ar influența semnificativ nondisjuncția cromozomilor autozomali acrocentrici. Nu există multe date legate de contribuția paternală în apariția SD. Se pare că există o asociere slabă între vârsta paternă avansată și frecvența crescută a anomaliilor cromozomiale.

În decursul anilor, s-au imaginat și implementat în cercetare, dar și în practica medicală curentă, o serie de metode și tehnici de screening și diagnostic prenatal care să permită evidențierea acestor anomalii cromozomiale. Screening-ul și diagnosticul prenatal permit femeii gravide să ia o decizie în cunoștință de cauză în privința sarcinii.

Screening-ul constă în determinarea serică a unor markeri produși de făt și placentă; valorile obținute pentru acești markeri împreună cu unele date clinice materne (istoria genetică a familiei, vârstă maternă, vârstă gestațională, greutate, rasă, status diabetic, fumat, fertilizare *in vitro*), numărul feților, date ecografice de anatomie fetală, sunt folosite într-un model matematic complex pentru a furniza un risc calculat. Screening-ul biochimic și cel ecografic trebuie să constituie teste recomandate tuturor femeilor gravide.

Testele de screening trebuie să prezinte o mare specificitate, o înaltă sensibilitate, să nu depisteze subiecți fals-negativi și numărul celor fals-pozitivi să fie foarte mic. Testul screening pozitiv nu este diagnostic, iar testul de screening negativ nu garantează absența patologiei pentru care se face screening-ul. În urma oricărui test de screening se obține doar o estimare.

În toate situațiile care necesită efectuarea unor investigații genetice, fie citogenetice, fie moleculare, indicația ce impune acest studiu este rezultatul screening-ului genetic, însă screening-ul genetic nu poate înlocui metodele de diagnostic bazate pe cariotipul fetal, care rămâne tehnica standard „de aur” a citogeneticii. Diagnosticul prenatal al anomaliilor cromozomiale este unul dintre cele mai importante provocări în perinatologia modernă și are la bază principiul conform căruia orice cariotip constituțional se determină în momentul concepției și diviziunea celulară copiază genomul respectiv în toate țesuturile (fetal și extraembrionar).

Scopul principal al diagnosticului prenatal prin metode invazive este reprezentat de identificarea stării de sănătate genetică a produșilor de concepție, descoperirea prin teste prenatale a eventualelor aneuploidii cromozomiale

ale embrionilor, respectiv ale feților, în vederea adoptării celei mai corecte atitudini față de produsul de concepție și/sau familie, înlăturarea anxietății parentale, promovarea nașterii de copii sănătoși.