

## Czy i jak często aberracje chromosomowe zarodków powtarzają się w kolejnej ciąży?

Do chromosomal abnormalities reappear in subsequent pregnancies and how often?

Skrzypczak Jana<sup>1</sup>, Kwinecka-Dmitriew Barbara<sup>1</sup>,  
Zakrzewska Monika<sup>2</sup>, Latos-Bieleńska Anna<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinika Rozrodczości, UM w Poznaniu

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Genetyki Medycznej, UM w Poznaniu

### Streszczenie

**Wstęp:** Czynnikiem genetycznym jest najczęstszą przyczyną samoistnych poronień. Niewiele jest jednak doniesień mówiących o ryzyku powtórzenia się tej samej aberracji chromosomowej lub pojawienia się innej w kolejnej ciąży. Celem pracy jest określenie ryzyka powtórzenia się aberracji chromosomowej zarodka w kolejnej ciąży a tym samym odpowiedź na pytanie czy znajomość kariotypów poronionych zarodków/ptodów jest przydatna w rokowaniu przebiegu następnej ciąży.

**Materiał i metoda:** Materiał stanowiły kosmówki utrwalone w postaci kostek parafinowych pochodzące od 26 kobiet z kolejnych poronień – z dwóch poronień od 21 pacjentek i z trzech od 5 pacjentek. Łącznie uzyskano materiał z 57 poronień. Do oceny cytogenetycznej odpowiednio przygotowanych kosmówek zastosowano metodę fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* – FISH. Wykorzystano 6 sond molekularnych dla chromosomów pary 13, 16, 18, 21, X i Y.

**Wyniki:** Z 57 wyników cytogenetycznych 38,6% było nieprawidłowych. Trisomie stanowiły 59,09% cytogenetycznych nieprawidłowości. Dwadzieścia trzy pacjentki z przynajmniej dwoma następującymi po sobie poronieniami doświadczyło w sumie 51 poronień, z czego 18 (35,3%) było aneuploidalnych. U 15 pacjentek wynik cytogenetyczny z pierwszego poronienia był prawidłowy, u 8 stwierdzono aberrację chromosomową. Z tych 8 pacjentek aberracja chromosomowa powtórzyła się w następnym poronieniu u 3. Natomiast spośród 15 pacjentek z prawidłowym wynikiem w materiale z 1. poronienia u 5 wystąpiła aberracja chromosomowa w następnym poronieniu. U 3 (13,0%) z 23 pacjentek z przynajmniej dwoma następującymi po sobie poronieniami aberrację chromosomową stwierdzono w każdym z poronień.

### Wnioski:

1. Aberracja chromosomowa może powtórzyć się w kolejnej ciąży, tym samym może być przyczyną nawracających poronień.
2. Znajomość kariotypu poronionego zarodka nie jest rozstrzygająca w prognozowaniu kolejnej ciąży.
3. Nieprawidłowy kariotyp zarodka może występować przy obecności innych przyczyn nawracających utrat ciąży.

Słowa kluczowe: **poronienie / kostki parafinowe / badania cytogenetyczne / metoda FISH / aberracje chromosomowe /**

### Adres do korespondencji:

Jana Skrzypczak  
Klinika Rozrodczości UM  
60-535 Poznań, ul. Polna 33  
tel./fax 61 841 93 02  
e-mail: klorzrodQgpsk.am.poznan.pl

Otrzymano: 20.07.2010  
Zaakceptowano do druku: 01.09.2010

## Abstract

**Objective:** Genetic factors are the most common causes of spontaneous abortions. 50% to 80% of first-trimester abortions reveal chromosome abnormalities. Evidence for the recurrence of the same or another chromosome abnormality in the next pregnancy is scarce.

**The aim:** The aim of our study was to estimate recurrence risk of abortus aneuploidy and to find out whether karyotyping of the abortus allows the prognose subsequent pregnancy outcomes.

**Material and methods:** Paraffin-embedded chorions have undergone cytogenetic examination using FISH with chromosome-specific probes. 57 chorions from 26 women have been assessed, including chorions from two consecutive abortions from 18 women and chorions from three consecutive abortions from 5 women.

**Results:** 38.6% of 57 specimens had chromosome aberrations. The most prevalent anomalies were 16, 21 and 18 trisomies. 23 patients had a subsequent abortion karyotyped; 15 had a normal initial karyotype and 8 had an aberrant initial karyotype. 3 out of the 8 patients had a repeated chromosome anomaly. 5 out of the 15 patients who initially miscarried an aneuploid embryo, had a subsequent miscarriage of an aneuploid embryo. Only 3 (13.04%) out of the 23 patients displayed aneuploidy in each abortus.

**Conclusion:**

1. Chromosome aberrations can reappear in subsequent pregnancies in the same patient and may be the cause of recurrent miscarriages.
2. The value of embryo/fetal karyotyping is not decisive in prognosis of subsequent pregnancy outcome.
3. Abnormal fetal karyotype can occur regardless of other causes of pregnancy loss.

Key words: **miscarriage / paraffin – embedding / cytogenetics / FISH / chromosome aberrations /**

## Wstęp

Najważniejszą przyczyną poronień samoistnych jest nieprawidłowy materiał genetyczny zarodka/płod, czyli ciężka choroba genetyczna rozwijającego się dziecka. Od 50 do 80% zarodków poronionych w 1. trymestrze wykazuje nieprawidłowości chromosomowe, z których najczęstszymi są aberracje liczby chromosomów [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Pięćdziesiąt procent aberracji chromosomowych stwierdzanych u poronionych samoistnie zarodków i płodów stanowią trisomie chromosomów autosomalnych, które mogą dotyczyć każdej pary chromosomów, jednak najczęstszymi są trisomie pary 16, 22, 21, 15 i 13. Czynnikiem ryzyka wystąpienia większości trisomii u zarodka/płod jest zaawansowany wiek ciężarnej. Inne aberracje liczby chromosomów często występujące u poronionych zarodków to monosomia X oraz poliploidie. Monosomia X jest stwierdzana w około 20% poronionych zarodków. W przypadku monosomii X płód jest płci żeńskiej i wykazuje charakterystyczny fenotyp: *cystic hygroma*, uogólniony obrzęk płodu i wadę serca. W około 80% przypadków monosomia X jest rezultatem braku chromosomu płciowego pochodzącego od ojca. Monosomie chromosomów autosomalnych są bardzo wczesnie letalne – w tych przypadkach dochodzi do bardzo wczesnych poronień, nawet jeszcze przed zagnieżdżeniem. Poliploidalność, tj. triploidia czyli obecność dodatkowego haploidalnego zestawu chromosomów oraz tetraploidia, tj. obecność dodatkowego zestawu diploidalnego, występuje znacznie rzadziej niż trisomie i monosomie, nie mniej jest odpowiedzialna za około 10% poronień. Zarówno triploidia (69 chromosomów) jak i tetraploidia (92 chromosomy) powodują liczne ciężkie wady rozwojowe i są prawie zawsze letalne w skutkach [1].

Istnieje wiele metod badań genetycznych materiału z poronienia – od metod cytogenetyki klasycznej, poprzez różnorodne metody cytogenetyki molekularnej (w tym FISH – fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*) i metod biologii molekularnej (QF-PCR), aż po najnowocześniejszą aktualnie technologię mikromacierzy [7, 8, 9, 10].

W zależności od zastosowanej metody, autorzy podają różny odsetek występowania aberracji chromosomowych u samoistnie poronionych zarodków, ale zawsze jest on wysoki (od 40 do ponad 70%) [1, 2, 3, 6, 11].

Niewiele jest doniesień mówiących o tym, czy istnieje ryzyko powtórzenia się tej samej aberracji chromosomowej lub pojawienia się innej w kolejnej ciąży. Tymczasem jest to niezwykle ważne nie tylko dla określenia rokowania co do utrzymania się następnych ciąż, ale także dla poradnictwa genetycznego. Powtórzenie się trisomii może być związane z wiekiem kobiety bądź z mozaikowością gonadalną lub wyższym ryzykiem występowania błędów podziału chromosomów podczas mejozy [12].

Istnieją doniesienia, że szanse na urodzenie zdrowego dziecka są większe u pary, u której w materiale z poronienia stwierdzono aberrację chromosomową w porównaniu do pary, u której stwierdzono prawidłowy kariotyp poronionego zarodka, pod warunkiem, że rodzice nie są nosicielami aberracji chromosomowej [13]. Z drugiej strony istnieją obserwacje Daniely i wsp. [14], że w przypadku stwierdzenia aberracji liczby chromosomów u poronionego zarodka, wzrasta prawdopodobieństwo (z 50 do 70%), że jeśli dojdzie do kolejnego poronienia, ponownie przyczyną utraty ciąży będzie nieprawidłowa liczba chromosomów u zarodka.

Jeśli u danej pary jest wiele poronień samoistnych, nie wykrywa się zwykle aberracji chromosomowej w materiale z poronienia co sugeruje, iż jeśli aberracja chromosomowa u zarodka powtarza się w kolejnym poronieniu, dotyczy to tylko niewielkiej liczby par [15].

Według Jacobs i wsp. [16] stwierdzenie triploidii lub tetraploidii w materiale z poronienia nie oznacza podwyższonego ryzyka wystąpienia tych aberracji w kolejnej ciąży.

Podobnie poronienie czy urodzenie dziecka z zespołem Turnera nie podwyższa ryzyka powtórzenia tej aberracji, z wyjątkiem sytuacji, gdy jedno z rodziców jest nosicielem mozaikowości w tkance gonad [17].

Czy i jak często aberracje chromosomowe zarodków powtarzają się w kolejnej ciąży?

## Cel pracy

Celem pracy jest określenie ryzyka powtórzenia się aberracji chromosomowej zarodka w kolejnej ciąży a tym samym odpowiedź na pytanie czy znajomość kariotypów poronionych zarodków/płodów jest przydatna w rokowaniu przebiegu następnej ciąży.

## Materiał

Materiał do badań stanowiły kosmówki utrwalone w postaci kostek parafinowych pochodzące od 26 kobiet z kolejnych poronień – z dwóch poronień od 21 pacjentek i z trzech od 5 pacjentek. Łącznie uzyskano materiał z 57 poronień. Materiał z poronienia pod postacią kostek parafinowych został pozyskany z Pracowni Histopatologii Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego w Poznaniu, z Katedry i Kliniki Patomorfologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, Pracowni Diagnostyczno-Usługowej INFO – PAT, oraz Pracowni Histopatologii Szpitala Miejskiego im. Raszei w Poznaniu. Badania genetyczne zostały wykonane w Katedrze i Zakładzie Genetyki Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Komisja Etyczna przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu udzieliła zgody na wykonanie badań, a pacjentki po wyjaśnieniu celu i metody badania wyraziły pisemną akceptację na ich przeprowadzenie.

## Metoda

Materiał do badań stanowiły komórki cytotrofoblastu kosmówki utrwalonej w 10% buforowanym roztworze formaliny lub paraformaldehydzie. Skrawki tkanki o grubości 4-5 mikronów uzyskane z bloczków parafinowych nakładano na szkiełka mikroskopowe i zapiekano w temperaturze 60°C przez 4-16 godzin. W celu usunięcia parafiny preparaty umieszczano w roztworze świeżego ksyleny w temperaturze pokojowej na 10 min, a następnie w 100% etanolu na 5 min. Tak przygotowany materiał umieszczano w 30% roztworze przygotowującym tkankę do procesu hybrydyzacji na 30 min w temperaturze 45°C. Kolejnym etapem było płukanie w 2X SSC w temperaturze pokojowej przez 30s, a następnie preparaty zostały zawieszono w 0,025% roztworze pepsyny. Czas trawienia dobierany był indywidualnie dla preparatów pochodzących z jednego bloczka parafinowego i wynosił od 10 do 30 min w temperaturze 45°C. Następnie materiał płukano w 2XSSC w temperaturze pokojowej przez 30s, odwadniano w szeregu etanolu 70%, 80% i 100% przez 1 min w każdym i suszono w temperaturze pokojowej. Jakość preparatów przed hybrydyzacją oceniano w mikroskopie Zeiss Axiophot z zastosowaniem fazykontrastu.

Następnym etapem było przeprowadzenie fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* – FISH i ocena sygnałów hybrydyzacyjnych. Do analizy zastosowano 6 sond molekularnych znakowanych fluorochromami (Vysis) dla chromosomów pary 13, 16, 18, 21 oraz dla X i Y, których – według piśmiennictwa i badań własnych – aberracje liczbowe są najczęściej obserwowane w materiale z poronień. Odczynniki do FISH niezbędne do przeprowadzenia wszystkich etapów reakcji były zakupione w postaci zoptymalizowanych zestawów, a hybrydyzację przeprowadzano wg zaleceń producenta. Kolejne etapy FISH to nałożenie sondy molekularnej na preparat, denaturacja na płycie grzewczej sond molekularnych i DNA jader komórkowych w preparatach cytogenetycznych, kilkunastogodzinna hybrydyzacja w łaźni wodnej,

odplukanie niezwiązanej sondy i obserwacja sygnałów hybrydyzacyjnych w mikroskopie fluorescencyjnym Nikon Eclipse E400 oraz wykonanie dokumentacji.

## Analiza statystyczna

Analiza statystyczna została przeprowadzona za pomocą programu Sigma Stat 3.5. Dla wieku, jako cechy, wykazano rozkład zgodny z rozkładem normalnym w obu grupach. Do zbadania istotności statystycznej różnic zastosowano t-test, wartość  $p < 0,05$  przyjęto za istotną statystycznie.

## Wyniki

Analizie poddano wyniki badań cytogenetycznych metodą FISH utrwalonych w kostkach parafinowych kosmówek z 57 poronień od 26 pacjentek, w tym z dwóch następujących po sobie poronień od 18 pacjentek, z trzech następujących po sobie od 5 pacjentek i z kolejnych nienastępujących po sobie poronień od 3 pacjentek.

Z 57 wyników cytogenetycznych 22 (38,6%) były nieprawidłowe. Trisomie stanowiły 59,09% wykrytych aberracji chromosomowych. Dominowały trisomie 16 (n=5) i 21 (n=4) pary chromosomów, w dalszej kolejności występowały trisomie 18 (n=3) i 13 (n=2) pary chromosomów. Pozostałe aberracje chromosomowe stanowiły aneuploidie chromosomów płciowych (n=7) i triploidie (n=2).

Dwadzieścia trzy pacjentki z przynajmniej dwoma następującymi po sobie poronieniami doświadczyły w sumie 51 poronień, z czego 18 (35,3%) było aneuploidalnych. U 3 (13,0%) z 23 pacjentek z przynajmniej dwoma następującymi po sobie poronieniami aneuploidię stwierdzono w każdym z poronień.

U 11 (42,30%) z 26 pacjentek nieprawidłowy wynik cytogenetyczny dotyczył kosmówki z pierwszego poronienia. U wszystkich 11 pacjentek znany był kariotyp. U jednej z nich wśród 50 analizowanych komórek wykryto po jednej komórce 47,XXX i 48,XXXX, u tej pacjentki w kosmówce z pierwszego poronienia wykryto trisomię 18 pary chromosomów.

Znane są również losy rozrodcze pacjentek, u których pierwsza ciąża zakończyła się poronieniem nieprawidłowego genetycznie zarodka. Dziewięć z 11 kobiet doczekało się szczęśliwie zakończonych ciąż, u jednej wystąpiły 3 dalsze poronienia, z których znany jest tylko kariotyp (46,XX) z drugiego poronienia, a u jednej pacjentki nastąpił poród w 34 tygodniu dziecka z wadą nerek i 2 kolejne poronienia.

Aberracja chromosomowa powtórzyła się w kosmówce z kolejnego poronienia u 5 (45,5%) pacjentek. Jeżeli wziąć pod uwagę tylko pacjentki z dwoma następującymi po sobie poronieniami i nieprawidłowym wynikiem cytogenetycznym w 1. badaniu, aberracja chromosomowa pojawiła się w następnym poronieniu u 3 (37,5%) z nich. (Tabela. I i II).

U 4 z 5 pacjentek powtórzyły się te same aberracje chromosomowe, były to trisomie 13 i 16 oraz aneuploidie chromosomów płciowych: 45,X i 47,XXY. U jednej pacjentki trisomia 16 została zastąpiona trisomią 21.

Średni wiek pacjentek, u których powtórzyły się aberracje liczby chromosomów w kolejnej ciąży wynosił 31,8 lat i nie różnił się od średniego wieku pacjentek, u których aberracja chromosomowa nie powtórzyła się w następnej i kolejnej ciąży ( $\pm 31,8$ ). Najstarszą (39 lat) była pacjentka, u której w materiale z poronienia dwukrotnie wystąpiła aberracja 47,XXY.

**Tabela I.** Wyniki badań cytogenetycznych kosmówek z dwóch następujących po sobie poronień.

Lp.	Wiek pacjentki (lata)	Kariotyp pacjentki	Kariotyp z 1. poronienia*	Kariotyp z 2. poronienia*
1.	38	46,XX	46,XX	47,XY,+21
2.	25	46,XX	46,XX	46,XY
3.	31	46,XX	46,XX	46,XY/47,XXY
4.	37	46,XX	46,XX	69,XXX
5.	34	46,XX	46,XX	47,XX,+16
6.	32	46,XX	46,XY	46,XX
7.	38	46,XX	69,XXX	46,XX
8.	29	46,XX	46,XY/47,XXY	46,XY
9.	34	47,XXX[1]/48,XXXX [1]/46,XX[48]	47,XY,+18	46,XX
10.	37	46,XX	47,XX,+13	47,XX,+13/ 48,XX,+16,+13
11.	31	mos 47,XX+21[2]/46,XX[48]	46,XX	46,XX
12.	39	46,XX	47,XXY	47,XXY
13.	23	46,XX	46,XX	46,XY
14.	33	46,XX	46,X,+18	45,X/46,XX
15.	24	46,XX	46,XY	46,XX
16.	31	46,XX	46,XX	46,XX
17.	27	46,XX	46,XX	46,XX
18.	30	46,XX	46,XX	46,XX

\* 46,XX oraz 46,XY: dla uproszczenia przyjęto hipotetyczny kariotyp;  
w rzeczywistości oznacza to, że nie wykryto aberracji w zakresie badanym

**Tabela II.** Wyniki badań cytogenetycznych kosmówek z trzech następujących po sobie poronień.

Lp.	Wiek pacjentki	Kariotyp pacjentki	Kariotyp z 1. poronienia*	Kariotyp z 2. poronienia*	Kariotyp z 3. poronienia*
1.	28	46,XX	46,XX	46,XX	45,X/46,XY
2.	22	46,XX	47,XY,+16	46,XX	47,XX,+21
3.	32	46,XX	47,XX,+16	46,XY	46,XX
4.	34	46,XX	46,XX	46,XX	47,XY,+21
5.	32	46,XX	46,XX	46,XX	46,XX

\* 46,XX oraz 46,XY: dla uproszczenia przyjęto hipotetyczny kariotyp;  
w rzeczywistości oznacza to, że nie wykryto aberracji w zakresie badanym

**Tabela III.** Wyniki badań cytogenetycznych kosmówek z dwóch nienastępujących po sobie poronień.

Lp.	Wiek pacjentki	Kariotyp pacjentki	Kariotyp z 1. poronienia*	Kariotyp z kolejnego poronienia*
1.	33	46,XX	47,XY,+21	46,XY
2.	25	46,XX	45,X	46,XX
3.	28	46,XX	47,XY,+16	47,XX,+16

\* 46,XX oraz 46,XY: dla uproszczenia przyjęto hipotetyczny kariotyp;  
w rzeczywistości oznacza to, że nie wykryto aberracji w zakresie badanym

Kariotypy pacjentek, u których w kosmówkach z dwóch poronień znaleziono aberracje chromosomowe były prawidłowe.

U 15 (57,7%) z 26 pacjentek materiał z pierwszego poronienia był prawidłowy w zakresie testowanych chromosomów, jednak u 6 (40,0%) pacjentek znaleziono aberracje chromosomowe w kosmówkach z kolejnych poronień. W 4 przypadkach nieprawidłowości genetyczne wystąpiły w następnej ciąży.

Średni wiek pacjentek, u których w kolejnych ciążach wystąpiły aberracje chromosomowe wynosił  $\pm 33,6$  lat i był

istotnie wyższy ( $p=0,016$ ) niż wiek ( $\pm 28,3$  lat) pacjentek, u których w materiale żadnego z poronień nie znaleziono aberracji. Kariotypy tych pacjentek były prawidłowe.

Rozpatrując wyniki badań genetycznych materiału z dwóch następujących po sobie poronień od 18 pacjentek zwrócono uwagę, że tylko u 8 (44%) kobiet nie znaleziono aberracji chromosomowej w żadnym z poronień, natomiast u pozostałych 10 (55,6%) pacjentek aberrację chromosomową wykryto przynajmniej w materiale z jednego poronienia. (Tabela I).

Czy i jak często aberracje chromosomowe zarodków powtarzają się w kolejnej ciąży?

Natomiast spośród 5 pacjentek z trzema następującymi po sobie poronieniami tylko u jednej nie wykryto aberracji chromosomowej w żadnym z poronień, zaś u pozostałych aberracja chromosomowa była obecna w kosmówce przynajmniej z jednego poronienia. (Tabela II).

Dodatkowego omówienia wymagają dwie pacjentki. Jedna z nich oznaczona nr 14, l.33, zgłosiła się do Kliniki Rozrodczości w 5. tygodniu trzeciej ciąży. U pacjentki w trakcie postępowania diagnostycznego po dwóch wcześniejszych poronieniach, rozpoznano obecność antykoagulantu tocznia. W związku z czym w 5 tygodniu kolejnej ciąży włączono kwas acetylosalicylowy, a po uwidocznieniu czynności serca płodu w badaniu ultrasonograficznym, co miało miejsce w 6 tygodniu ciąży, zalecono drobnocząsteczkową heparynę w dawce profilaktycznej – 0,4mg. Mimo leczenia w 8 tygodniu ciąży doszło do kolejnego poronienia. Badanie kosmówki z tego poronienia wykazało mozaikowość 45,X/46,XX, wobec czego oznaczono również kariotyp kosmówki utrwalonej w kostce parafinowej z poprzedniego poronienia, który także był nieprawidłowy, wykryto trisomię 18 pary chromosomów i monosomię 45,X. Kolejna, czwarta ciąża pacjentki zakończyła się urodzeniem zdrowego syna. U drugiej pacjentki l. 31 oznaczonej nr 11, w trakcie diagnostyki po 2 poronieniach wykryto nosicielstwo linii komórkowej z trisomią 21: 47,XX,+21[2]/46,XX[48]. W materiale z dwóch przebytych poronień nie stwierdzono aberracji chromosomowej. Kolejna, trzecia ciąża pacjentki zakończyła się urodzeniem zdrowej dziewczynki.

## Dyskusja

Jak dotąd nie ma w piśmiennictwie jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, czy nawracające poronienia mogą być wywołane powtarzającą się aberracją chromosomową u zarodków. Brak dużych badań, które analizowałyby kariotypy z więcej niż jednego poronienia od tej samej pacjentki czyni dyskusję dość trudną. Najczęściej przytaczana w tym temacie praca Warburton i wsp. [18] obejmuje 273 pacjentki, u których oznaczono kariotypy z dwóch poronień. Carp i wsp. [19] przedstawili wyniki badań kariotypów z dwóch następujących po sobie poronień od 17 a Sullivan i wsp. [20] od 30 pacjentek. Nasz materiał pochodzi od 23 pacjentek z przynajmniej dwoma następującymi po sobie utratami ciąż we wczesnym okresie. Badania wspomnianych wyżej autorów odnoszą się do świeżych kosmówek, pozyskiwanych natychmiast po poronieniu, z których kariotypy oceniono standardową metodą hodowli i barwienia techniką GTG.

Do oceny cytogenetycznej naszego materiału, który stanowiły kosmówki utrwalone w postaci kostek parafinowych, wykorzystano metodę FISH z 6 sondami molekularnymi dla chromosomów pary 13, 16, 18, 21 oraz dla X i Y.

W przytaczanych badaniach rozpatrywano między innymi ryzyko powtórzenia się aberracji chromosomowej w następnej ciąży. Z pracy Warburton i wsp. opublikowanej w 1987 roku wynika, że nie ma wzrostu ryzyka powtórzenia się trisomii w kolejnej ciąży po uprzednim aneuploidalnym – trisomicznym lub innym poronieniu. Natomiast jest istotny wzrost ryzyka powtórzenia się takiej samej aberracji chromosomowej poza trisomią w następnej ciąży. Kolejnym wnioskiem jest istotny wzrost szansy na chromosomowo prawidłową ciążę po uprzednim euploidalnym poronieniu [18]. Praca z 2004 roku tej samej autorki oparta na amniopunkcji genetycznej i biopsji kosmówki dowodzi istotnego

wzrostu ryzyka dla powtórzenia się heterotrisomicznej aberracji w następnej ciąży, tym samym zaprzecza wcześniejszym wnioskom [12]. Ta ostatnia obserwacja potwierdza hipotezę, że niektóre kobiety mają wyższe ryzyko nondysjunkcji niż inne kobiety w tym samym wieku. Natomiast w materiale Sullivan i wsp. [20] częstość występowania aneuploidalnych poronień wśród pacjentek z nawracającymi poronieniami, za które przyjęto 2 i więcej następujących po sobie utrat ciąży wynosi 25%; dla porównania w naszym materiale na 51 kariotypów kosmówek z nawracających poronień 18 (35,3%) było nieprawidłowych. Wśród 30 pacjentek z dwoma następującymi poronieniami analizowanych przez Sullivan i wsp., u 3, co stanowi 10%, aberracja chromosomowa wystąpiła w każdym poronieniu [20], w naszych badaniach ten odsetek był bardzo podobny i wynosił 13,0%. Pozostałe uzyskane przez nas wyniki są prawie identyczne z opublikowanymi przez Carpa i wsp [19]. Autorzy ci ocenili kariotypy z dwóch poronień od 17 ze 167 pacjentek; 11 kariotypów z pierwszego poronienia było prawidłowych, a 5 wykazywało aberrację chromosomową (1 wyniku nie uzyskano). Spośród 5 pacjentek z nieprawidłowym kariotypem z pierwszego poronienia aberracja chromosomowa powtórzyła się w drugim poronieniu u 2 (40%), a u 3 pacjentek kariotyp z poronionego materiału był prawidłowy.

W naszych badaniach u 8 pacjentek z przynajmniej dwoma następującymi poronieniami i nieprawidłowym kariotypem z pierwszego poronienia, aberracja chromosomowa powtórzyła się w kolejnym poronieniu u 3 (37,5%) z nich. W niepublikowanych, późniejszych badaniach Sullivan i wsp. z 43 aneuploidalnych poronień powtórzyły się tylko 3, co stanowi 18,6%.

Zatem odpowiedź na pytanie czy aberracja chromosomowa może powtórzyć się w następnej ciąży jest twierdząca, chociaż wielkość tego ryzyka jest różnie podawana, od 18,6% do 37,5%. Można jednak przyjąć, że powtarzająca się w kolejnej ciąży aberracja chromosomowa może być przyczyną nawracających poronień.

Na kolejne pytanie czy stwierdzenie aberracji chromosomowej w pierwszym poronieniu rokuje lepiej dla kolejnej ciąży, większość autorów odpowiada twierdząco [13, 19]. W badaniach Carpa i wsp. [19] wyższe szanse (68%) na urodzenie zdrowego dziecka miały pary, u których poroniony samoistnie zarodek miał aberrację chromosomową, niż pary u których w materiale z poronienia nie znaleziono aberracji chromosomowych (41%). Według tego samego autora 85% kobiet, u których poronienie było spowodowane aberracją chromosomową u zarodka, może być spokojna o losy kolejnej ciąży, jednak u 15% istnieje ryzyko powtórzenia się aberracji chromosomowej [15]. Ogasawara i wsp. [13] wykazali również, że częstość występowania aberracji chromosomowych u zarodka zmniejsza się wraz z liczbą poronień.

W naszych badaniach obserwujemy nieco inny trend, bliższy wnioskowi Daniela i wsp.[14]. Nieprawidłowy wynik cytogenetyczny powtórzył się w kolejnym poronieniu (niekoniecznie następowym) u 45,5% pacjentek (u 5 z 11). Według Daniela i wsp. [14] odsetek powtórných poronień z aberracją chromosomową u zarodka wzrasta do 50 – 70%. Warto również podkreślić, że u 5 naszych pacjentek z trzema następującymi po sobie poronieniami tylko u jednej wszystkie trzy poronienia były przy prawidłowym kariotypie zarodka (w zakresie badanym).

Czy powtórzenie się aneuploidii lub poliploidii jest tylko kwestią przypadku? A może powinno być traktowane jako dowód na mozaikowość gonadalną?

Z drugiej strony wynikałoby, że pary, u których w materiale z poronienia nie znaleziono aberracji chromosomowych mają gorsze rokowanie co do rozwoju kolejnej ciąży, a ponadto również mogą spodziewać się poronienia spowodowanego aberracją chromosomową u zarodka.

W materiale własnym z 15 pacjentek, u których materiał z pierwszego poronienia był cytogenetycznie prawidłowy w zakresie badanych chromosomów u 6 (40,0%) znaleziono aberracje chromosomowe w kosmówkach z kolejnych poronień. Można więc powiedzieć, że ryzyko wystąpienia aberracji chromosomowej zarodka w kolejnej ciąży wynosi około 40% niezależnie od tego czy w pierwszym poronieniu stwierdzono aberrację chromosomową, czy nie.

Zdajemy sobie sprawę, że metoda FISH z zastosowaniem niekompletnego panelu sond molekularnych nie pozwala na ujawnienie wszystkich aberracji chromosomowych w badanym materiale. Wg Simpson [6] zastosowany panel pozwala na identyfikację około 90% aberracji liczby chromosomów spotykanych w materiale z poronień. Taką samą metodą posłużyli się Rubio i wsp. [21] w diagnostyce preimplantacyjnej. Stosując taki sam, jak zastosowany przez nas panel sond molekularnych wykazali, że aberracje chromosomowe wśród zarodków pochodzących od par z nawracającymi poronieniami występowały istotnie częściej niż w grupie kontrolnej.

Pozostaje jeszcze problem wieku pacjentki, który jak wiadomo jest ważnym czynnikiem ryzyka wystąpienia trisomii. Z badań Rynanera i wsp. [22] wynika, że ryzyko powtórzenia się trisomii w kolejnej ciąży dla kobiety poniżej 35 roku życia wynosi 2,3%, natomiast powyżej tego wieku 8,2%. W badaniach własnych z powodu małej liczby pacjentek nie stwierdziliśmy takiej zależności. Wiek kobiet, u których powtórzyły się w kolejnej ciąży aberracje chromosomowe był taki sam ( $\pm 31,8$  lat) jak wiek kobiet, u których materiał z następnego poronienia był cytogenetycznie prawidłowy.

Mimo, iż nie wykazaliśmy aby znajomość kariotypu poronionego zarodka była rozstrzygająca w rokowaniu kolejnej ciąży, to niewątpliwie takie badanie dostarcza wielu informacji, przede wszystkim ustala przyczynę poronienia, co ma duże znaczenie zarówno dla lekarza prowadzącego jak i dla pary z niepowodzeniami rozrodu [23, 24].

W niektórych krajach, m.in. w USA, najpierw wykonuje się cytogenetyczne badania zarodków i dopiero w zależności od ich wyniku ocenę kariotypu rodziców. Trudno więc zgodzić się z opinią Goddijn, która wykład na ostatnim spotkaniu Grupy do Wczesnej Ciąży w Rzymie br. zakończyła słowami „no more parental karyotyping, PGD, fetal karyotyping in couples with recurrent miscarriage”.

Przypadek pacjentki z zespołem antyfosfolipidowym, u której dwa poronienia były uwarunkowane aneuploidią dobitnie wskazuje na konieczność wykonywania badań cytogenetycznych kosmówek/zarodków, nawet w tych sytuacjach kiedy przyczyna poronienia wydaje się oczywista, tak jak w zespole antyfosfolipidowym, czy wadach macicy.

Z drugiej strony jesteśmy przekonani, że badania cytogenetyczne poronionych zarodków u kobiet z rozpoznanyim zespołem antyfosfolipidowym znacznie ograniczyłyby kwalifikację pacjentek do tego zespołu, ponieważ jednym z jego kryteriów jest utrata genetycznie prawidłowego płodu.

## Wnioski

1. Aberracja chromosomowa u zarodka może powtórzyć się w kolejnej ciąży, tym samym u niektórych par może być przyczyną nawracających poronień.
2. W większości przypadków znajomość kariotypu poronionego zarodka nie jest rozstrzygająca dla prognozowania przebiegu kolejnej ciąży.
3. Nieprawidłowy kariotyp zarodka może występować przy obecności innych przyczyn nawracających utrat ciąży np. zespołu antyfosfolipidowego.

## Piśmiennictwo

1. Firth H, Hurst J, Hall J. Desk Reference: Clinical Genetics. Oxford: Oxford University Press, 2006.
2. Ljunger E, Cnattingius S, Lundin C, [et al.]. Chromosomal anomalies in first-trimester miscarriages. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005, 84, 1103-1107.
3. Farfalli V, Magli M, Ferraretti A, [et al.]. Role of aneuploidy on embryo implantation. *Gynecol Obstet Invest.* 2007, 64, 161-165.
4. Goddijn M, Leschot N. Genetic aspects of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2000, 14, 855-865.
5. Benkhalifa M, Kasakyan S, Clement P, [et al.]. Array comparative genomic hybridization profiling of first-trimester spontaneous abortions that fail to grow in vitro. *Prenat Diagn.* 2005, 25, 894-900.
6. Simpson J. Genetics of spontaneous abortions. In: Recurrent pregnancy loss. Causes, controversies and treatment. Ed. Carp. London: Informa Healthcare, 2007.
7. Diego-Alvarez D, Rodriguez de Alba M, Cardero-Merlo R, [et al.]. MLPA as a screening method of aneuploidy and unbalanced chromosomal rearrangements in spontaneous miscarriages. *Prenat Diagn.* 2007, 27, 765-771.
8. Zou G, Zhang J, Li X, [et al.]. Quantitative fluorescent polymerase chain reaction to detect chromosomal anomalies in spontaneous abortion. *Int J Gynaecol Obstet.* 2008, 103, 237-240.
9. Warren J, Turok D, Maxwell T, [et al.]. Array comparative genomic hybridization for genetic evaluation of fetal loss between 10 and 20 weeks of gestation. *Obstet Gynecol.* 2009, 114, 1093-1102.
10. Rajcan-Separovic E, Qiao Y, Tyson C, [et al.]. Genomic changes detected by array CGH in human embryos with developmental defects. *Mol Hum Reprod.* 2010, 16, 125-134.
11. Munne S, Alikani M, Tomkin G, [et al.]. Embryo morphology, developmental rates and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril.* 1995, 64, 382-391.
12. Warburton D, Dallaire L, Thangavelu M, [et al.]. Trisomy Recurrence: A Reconsideration Based of North American Data. *Am J Hum Genet.* 2004, 75, 376-385.
13. Sugiura-Ogasawara M, Ozaki T, Sato T, [et al.]. Poor prognosis of recurrent abortes with either maternal of paternal reciprocal translocations. *Fertil Steril.* 2004, 81,367-373.
14. Daniely M, Aviram H, Carp H, [et al.]. The association between sporadic somatic parental aneuploidy and chromosomally abnormal placenta in habitual abortions. *Early Pregnancy.* 2001, 5, 153-163.
15. Carp H. Recurrent Miscarriage: Genetic Factors and Assessment of the Embryo. *IMAJ.* 2008, 10, 229-231.
16. Jacobs A, Szulman A, Funkhouser J, [et al.]. Human triploidy: relationship between parental origin of the additional haploid complement and development of partial hydatidiform mole. *Ann Hum Genet.* 1982, 46, 223-231.
17. Fryns J, van Bughenout G. Structural chromosome rearrangements in couples with recurrent fetal wastage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1998, 81, 171-176.
18. Warburton D, Kline J, Stein Z, [et al.]. Does the Karyotype of a Spontaneous Abortion Predict the Karyotype of a Subsequent Abortion? – Evidence from 273 Women with Two Karyotyped Spontaneous Abortion. *Am J Hum Genet.* 1987, 41, 465-483.
19. Carp H, Toder V, Aviram A, [et al.]. Karyotype of the abortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril.* 2001, 75, 678-682.
20. Sullivan A, Silver R, La Coursiere D, [et al.]. Recurrent Fetal Aneuploidy and Recurrent Miscarriage. *Obstet Gynecol.* 2004, 104, 784-788.
21. Rubio C, Pehlivan T, Rodrigo L, [et al.]. Embryo aneuploidy screening for unexplained recurrent miscarriage: a minireview. *Am J Reprod Immunol.* 2005, 53, 159-165.
22. Rynänen M, Leskinen S, Heinonen S [et al.]. Recurrent risk of a serious, noninherited chromosomal abnormality. *Fertil Steril.* 1997, 68, 439-442.
23. Kwinecka-Dmitriew B, Zakrzewska M, Latos-Bieleńska A, Skrzypczak J. Częstość występowania aberracji chromosomowych w materiale z poronień. *Ginekol Pol.* w druku.
24. Rekomendacje PTG w zakresie wybranych patologii wczesnej ciąży oraz postępowania w ciąży po zapłodnieniu in vitro. *Ginekol Pol.* 2004, 75, 905-912.