ANEUPLOIDIA CHROMOSOMU 21: NAJWAŻNIEJSZE CZYNNIKI RYZYKA

ANEUPLOIDY OF CHROMOSOME 21: THE MOST IMPORTANT RISK FACTORS

Angelika PLAK, Gabriela GAJEK, Alina BŁASZCZYK

Pracownia Cytogenetyki, Katedra Genetyki Ogólnej, Biologii Molekularnej i Biotechnologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie: Aneuploidia jest wynikiem nieprawidłowo przebiegającego procesu mejozy, w trakcie którego dochodzi do nie rozejścia się chromosomów (nondysjunkcji, NDJ) podczas mejotycznej anafazy. Częstość aneuploidii w ludzkich zygotach jest wysoka i może wynosić nawet 30%. Jedną z najbardziej znanych aneuplodii jest trisomia chromosomu 21 będąca przyczyną zespołu Downa. Mimo, iż przyczyna zespołu Downa, a także przyczyny wielu innych chorób związanych z nieprawidłową liczbą chromosomów zostały zidentyfikowane w latach 50. ubiegłego wieku to czynniki ryzyka oraz mechanizmy nondysjunkcji do tej pory nie są do końca poznane. Niewątpliwie najbardziej znaczącym czynnikiem ryzyka dla zajścia NDJ jest wiek matki. Długi i złożony przebieg mejozy u kobiet sprzyja bowiem gromadzeniu się w ciągu kolejnych lat życia kobiety toksycznych efektów środowiska i postępującemu procesowi degradacji maszynerii mejotycznej. W niniejszej pracy omówiono najważniejsze czynniki zwiększające ryzyko NDJ. Oprócz znaczenia dla tego procesu wieku matki zwrócono uwagę między innymi na zaburzenia w rekombinacji zachodzącej między chromosomami homologicznymi, zaburzenia w kohezji chromosomów oraz nieprawidłowe funkcjonowanie punktu kontrolnego wrzeciona podziałowego. Omówiono również inne czynniki ryzyka mogące potencjalnie mieć znaczenie dla częstości aneuploidii obserwowanej w populacji człowieka, takie jak: wiek ojca, polimorfizm genów szlaku kwasu foliowego, palenie tytoniu, związki chemiczne zaburzające gospodarkę hormonalną.

Słowa kluczowe: aneuploidia, nondysjunkcja, trisomia 21, efekt wieku matki, rekombinacja mejotyczna

Summary: Aneuploidy is the result of incorrect chromosome disjoining (nondisjunction, NDJ) during meiotic anaphase. The rate of aneuploidy in human zygotes is high – it may reach 30%. One of the best known aneuploidy is trisomy 21 which is the cause of Down syndrome. Despite the fact that an etiology of Down syndrome as well as the cause of many other diseases associated with an abnormal number of chromosomes have been identified in the 1950s, the risk factors and mechanisms of nondysjunction have

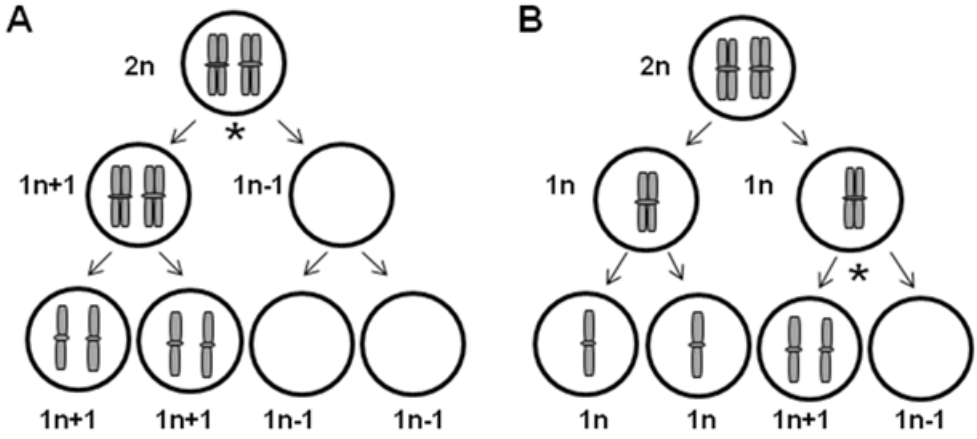
not been fully elucidated yet. Undoubtedly, the most significant risk factor for NDJ is maternal age. Long and complicated meiosis in females results in accumulation of toxic effects of environment and degradation of meiotic machinery components. In the present paper the most important risk factors for nondisjunction are presented. Apart from significance of maternal age in this process the attention was drawn to disturbances in the recombination between homologous chromosomes, disrupted chromosome cohesion and incorrect function of the spindle checkpoint. Other risk factors that may affect the frequency of aneuploidy in human, such as the paternal age, polymorphism of genes associated with the folate metabolic pathway, tobacco smoking and the compounds disrupting hormonal balance, were also described.

Key words: aneuploidy, nondisjunction, trisomy 21, maternal age effect, meiotic recombination

WSTĘP

Aneuploidia, czyli brak lub obecność dodatkowego chromosomu w komórkach, uważana jest za główną przyczynę poronień samoistnych. Jest ona wynikiem powstawania gamet z nieprawidłową liczbą chromosomów. Segregacja chromosomów podczas mejozy odbywa się w dwóch etapach zwanych: mejozą I (MI), w trakcie której następuje zredukowanie liczby chromosomów oraz mejozą II (MII), w której, podobnie jak w mitozie, rozdzielane są do komórek potomnych siostrzane chromatydy chromosomów. W wyniku prawidłowo przebiegającej mejozy komórka szlaku płciowego zawierająca diploidalną liczbę chromosomów (2n) dzieli się dając 4 komórki potomne ze zredukowaną, haploidalną liczbą chromosomów (1n). Błędy podczas mejotycznej anafazy polegające na nie rozdzieleniu chromosomów homologicznych (nondysjunkcji, NDJ) i wspólnym przekazaniu ich jednej komórce potomnej skutkują powstawaniem gamet aneuploidalnych zawierających nieprawidłową liczbę chromosomów, np. 1n+1 lub 1n-1 (ryc. 1). Gamety takie mogą być wyeliminowane po zapłodnieniu poprzez samoistne poronienie bądź mogą być przyczyną wad obserwowanych u płodu. Badania chromosomów spontanicznie poronionych płodów ludzkich wykazały, że 50,6% z nich miało nieprawidłowy kariotyp [20]. Obserwowany odsetek aneuploidalnych kariotypów może być różny w zależności od etapu ontogenezy: wśród poronień samoistnych wynosi on 35%, w oocytach – 20%, a wśród żywo urodzonych noworodków – 0,3% [60]. Biorąc pod uwagę dostępne dane z różnych badań, m.in. te z męskich i żeńskich gamet lub zarodków pochodzących z zapłodnienia *in vitro* oraz fakt, że istnieje wiele niemożliwych do zbadania wczesnych poronień, częstość aneuploidii wśród ludzkich zygot może wynosić nawet 30% [60]. Mimo wielu lat badań nad aneuploidią przyczyny tak wielu błędów w mejotycznej segregacji chromosomów u ludzi nie zostały jeszcze wyjaśnione.

Jedną z najczęściej obserwowanych aneuploidii (obserwuje się ją z częstością 1 na 600-800 żywych urodzeń) jest trisomia chromosomu 21 będąca przyczyną objawów chorobowych określanych jako zespół Downa. Charakterystycznymi wspólnymi cechami pacjentów obarczonych tą aneuploidią jest opóźnienie umysłowe, hipotonia, specyficzny wygląd twarzy, dłoni oraz stóp. Objawami towarzyszącymi mogą być np. wrodzone wady serca i zaburzenia przewodu pokarmowego. Obecność dodatkowego chromosomu 21 spowodowana jest w większości przypadków nondysjunkcją chromosomów podczas podziału mejotycznego. Wyniki analizy przyczyn aneuploidii w badaniach dotyczących zespołu Downa wskazują na znaczną przewagę błędów matczynego pochodzenia (93%) nad ojcowskim (5%) [90]. Błędy te związane są z niewłaściwą segregacją chromosomów mającą miejsce głównie podczas MI. Błędy post-zygotyczne obserwuje się w ok. 2,0% przypadków. W niniejszej pracy omówione zostaną główne czynniki zwiększające ryzyko zajścia nondysjunkcji, takie jak wiek matki, wiek ojca, czynniki genetyczne i środowiskowe, rekombinacja między chromosomami podczas mejozy oraz funkcjonowanie kompleksu kohezyjnego.



RYCINA 1. Nondysjunkcja chromosomów (*) w pierwszym podziale mejotycznym (A) i w drugim podziale mejotycznym (B) prowadząca do powstania aneuploidalnych gamet zawierających dodatkowy chromosom (1n+1) lub gamet, w których brakuje jednego chromosomu (1n-1). Prawidłowo przebiegająca segregacja chromosomów w mejozie prowadzi do powstania haploidalnych gamet zawierających 1n chromosomów

FIGURE 1. Chromosome nondisjunction (*) in the first (A) and second (B) meiotic division which results in the formation of gametes having an extra chromosome (1n+1) or gametes missing one chromosome (1n-1). Proper chromosome segregation during meiosis results in haploid gametes (1n)

CZYNNIKI ZWIĘKSZAJĄCE RYZYKO WYSTĄPIENIA NONDYSJUNKCJI

WIEK MATKI

Najbardziej znaczącym czynnikiem ryzyka dla nondysjunkcji ludzkich chromosomów jest wiek matki. Badania wykazały, że średni wiek matki dziecka z zespołem Downa był wyższy w porównaniu z grupą kontrolną [2, 52]. Wiek matki ma znaczenie zarówno dla nieprawidłowego przebiegu pierwszego (MI) jak i drugiego podziału mejotycznego (MII) [52, 90]. Sugeruje się, że mejoza w żeńskich komórkach rozrodczych jest szczególnie podatna na błędy, ponieważ w odróżnieniu do spermatogenezy ma długi oraz złożony przebieg [31]. Jest ona zainicjowana w oocytach już ok. 12 tygodnia życia płodu i zostaje zatrzymana w ok. 20 tygodniu w momencie zapoczątkowania procesu rekombinacji (*crossing-over*) w profazie I. Wznowienie mejozy następuje dopiero po 10 – 15 latach, w okresie osiągnięcia dojrzałości płciowej, tuż przed owulacją oocytu. Po zakończonym MI i rozpoczęciu MII dochodzi do kolejnego zatrzymania podziału komórkowego w stadium metafazy. Jego kontynuacja oraz zakończenie następuje z chwilą zapłodnienia [31]. Momenty oczekiwania na wznowienie podziału sprzyjają gromadzeniu się toksycznych efektów środowiska oraz degradacji maszynerii mejotycznej. Z uwagi na charakter mejozy wyróżnia się 4 momenty obarczone możliwością zajścia NDJ zależnej od wieku matki: premejotyczny etap o szybkich mitotycznych podziałach, koniugacja chromosomów homologicznych wraz z rekombinacją podczas MI, etap zatrzymania oogenezy w MI oraz moment wznowienia mejozy i jej postęp do MII [39].

W procesie nondysjunkcji chromosomów podczas podziału mejotycznego dużą rolę odgrywa zjawisko *crossing-over*, czyli wymiana materiału genetycznego między chromosomami pochodzenia ojcowskiego a chromosomami pochodzenia matczynego zachodzące w trakcie MI. Prawidłowy przebieg rekombinacji skutkuje wymianą materiału genetycznego między odcinkami chromosomów homologicznych a duża liczba chiazm, które są rezultatem tego procesu i utrzymują razem chromosomy homologiczne chroni je przed przedwczesnym rozdzieleniem i zmniejsza ryzyko zajścia nondysjunkcji [52]. Analiza map genetycznych pokazuje, iż istnieje różnica w częstości rekombinacji między genomem żeńskim a genomem męskim, a także, że częstość rekombinacji jest różna w różnych miejscach genomu [33, 44, 46]. Ponadto liczba rekombinacji jest również różna u różnych matek a nawet w gametach tej samej matki [45]. Analizy wykonane w eksperymentach z mysimi oocytami, w których wraz z wiekiem myszy obserwowano obniżenie częstości występowania *crossing-over* i powstawanie uniwalentów sugerowały, że taka redukcja liczby rekombinacji może być przyczyną nondysjunkcji chromosomów i związana jest z wiekiem matki [34]. Wyniki niektórych badań dotyczących rekombinacji zachodzącej między chromosomami 21 w komórkach jajowych kobiet pokazały redukcję często-

ści *crossing-over* skorelowaną ze wzrostem wieku matek [59]. W innych badaniach nie obserwowano jednak takiej zależności lub spadek częstości rekombinacji był nieistotny statystycznie [44, 51, 52].

Analiza map genetycznych o wysokiej rozdzielczości przeprowadzona z wykorzystaniem materiału pozyskanego od dużej grupy rodziców i ich żywo urodzonych dzieci wykazała z kolei odwrotną zależność, wskazującą na zwiększenie częstości rekombinacji wraz ze wzrostem wieku matek, widoczne już w wieku 30-35 lat, czyli w wieku, dla którego obserwowany jest już wzrost liczby nondysjunkcji [44, 75]. Stwierdzono, że efekt wieku matki przekłada się na dwie dodatkowe rekombinacje w okresie 25 lat. Najbardziej prawdopodobnym wyjaśnieniem tego zjawiska jest to, że liczba rekombinacji tak naprawdę nie wzrasta wraz z wiekiem a obserwowany efekt jest wynikiem selekcji, która zwiększa szansę na zapłodnienie komórek jajowych z większą liczbą rekombinacji. Taki efekt selekcji istnieje zawsze, także u młodych matek, ale staje się silniejszy wraz z wiekiem [44]. Sugeruje to, iż duża liczba zdarzeń rekombinacyjnych między chromosomami zwiększa stabilność biwalentów i chroni przed nondysjunkcją chromosomów, natomiast chromosomy bez rekombinacji lub z pojedynczą rekombinacją mogą ulegać nieprawidłowej segregacji niezależnie od wieku matki [52, 75].

Lamb i wsp. [51] zasugerowali, że dla zajścia nondysjunkcji chromosomów konieczna jest obecność co najmniej dwóch zdarzeń (tzw. koncepcja „dwóch uderzeń"). Pierwsze z nich to powstanie wrażliwej konfiguracji mejotycznej w oocytach płodu, np. obecność biwalentu bez rekombinacji lub biwalentu z wymianą odcinków homologicznych chromosomów w nieodpowiednim miejscu. Drugim zdarzeniem jest degradacja procesu mejotycznego w stadium MI w dojrzałym jajniku, np. uszkodzenie wrzeciona kariokinetycznego czy rozpad białka kohezyjnego. Ten etap uznawany jest za zależny od wieku matki [51]. Model dwóch uderzeń zakłada, że mechanizm nondysjunkcji chromosomu 21 jest podobny u młodszych jak i u starszych kobiet, a efekt wieku wynika z podatnej na błędy maszynerii mejotycznej w dojrzałych jajnikach – skutkuje to nieprawidłową segregacją „podatnych" biwalentów. U młodych kobiet maszyneria mejotyczna funkcjonuje jeszcze w sposób optymalny i dzięki temu segregacja chromosomów zachodzi prawidłowo. Dla młodszych kobiet największym czynnikiem ryzyka dla powstania NDJ jest więc obecność wrażliwej konfiguracji mejotycznej [52].

REKOMBINACJA MIĘDZY CHROMOSOMAMI HOMOLOGICZNYMI

Z trisomiami pochodzenia ludzkiego związane są trzy nietypowe konfiguracje rekombinacji:

- brak *crossing-over* (achiazmatyczne biwalenty),
- rekombinacja zlokalizowana w chromosomach dystalnie,

- rekombinacja zlokalizowana w chromosomach proksymalnie [31, 64].

Wpływ tych różnych wzorów rekombinacji na ryzyko nondysjunkcji nie jest jednakowy w odniesieniu do wszystkich chromosomów. W przypadku chromosomu X oraz chromosomu 18 trisomie pochodzenia matczynego związane są głównie z brakiem rekombinacji między chromosomami homologicznymi, natomiast lokalizacja miejsca rekombinacji w przypadku tych chromosomów prawdopodobnie nie ma istotnego znaczenia [25]. Z kolei czynnikiem ryzyka dla chromosomu 16 jest dystalna lokalizacja rekombinacji [28]. Dla chromosomu 21 wykazano, że źródłem trisomii może być każda z wyżej wymienionych konfiguracji [31, 51].

Sugeruje się, że wpływ na błędy w segregacji chromosomów ma nie tylko liczba oraz miejsce rekombinacji ale również rozmiar chromosomu [9]. Rozmiar chromosomów wiąże się bezpośrednio z liczbą obecnych chiazm, określających miejsce *crossing-over*. Chiazmy warunkują utrzymanie chromosomów homologicznych razem po zakończeniu rekombinacji przyczyniając się do ich prawidłowego rozdzielenia, dlatego im mniejszy chromosom tym większa jest szansa na nieprawidłowe rozejście się chromosomów biwalentu do komórek potomnych. W przypadku chromosomu 21 należącego do najmniejszych z autosomów, spójność pomiędzy jego homologami podczas mejozy zapewniana jest tylko przez jedną bądź dwie chiazmy. Badania populacyjne wykazały, że w grupie osób, u których mejoza zachodziła w sposób prawidłowy ogólna liczba rekombinacji dla chromosomu 21 wynosiła średnio 1,38 na tetradę, natomiast w grupie osób z nieprawidłowym przebiegiem mejozy (nondysjunkcja w trakcie MI) liczba zdarzeń rekombinacyjnych była niższa: 0,73 na tetradę [51]. Oznacza to, że inaczej niż w przypadku dużych chromosomów, utrata pojedynczej chiazmy dla chromosomu 21 stanowi ogromne ryzyko dla powstania achiazmatycznych biwalentów. Wyjaśnia to częstsze występowanie nondysjunkcji z udziałem akrocentrycznych chromosomów podczas matczynej MI [20].

W niektórych badaniach z udziałem kontrolnej grupy kobiet, które urodziły zdrowe dzieci nie obserwowano wyraźnego powiązania między wiekiem matki a liczbą lub lokalizacją wymian w obrębie chromosomu 21 [14]. W innych badaniach przeprowadzonych na znacznie większej grupie osób badanych taką zależność obserwowano [44]. Analiza miejsc i liczby rekombinacji w chromosomach 21 u matek dzieci z zespołem Downa wykazała natomiast, że liczba chiazm i ich lokalizacja ma ogromne znaczenie dla prawidłowego rozdziału chromosomów podczas mejozy [44, 52]. Lamb i wsp. [42] w grupie matek dzieci z trisomią 21 obserwowali znacznie więcej przypadków braku rekombinacji między chromosomami niż w grupie kontrolnej. Analizując jednak uzyskane wyniki w różnych grupach wiekowych nie obserwowano wzrostu liczby przypadków biwalentów bez rekombinacji wraz ze wzrostem wieku matek dzieci z zespołem Downa. Dla kobiet w wieku poniżej 29 lat procent biwalentów bez rekombinacji wynosił 72, a dla grup wiekowych 29-34 oraz powyżej 34, odpowiednio 61 i 78 [52]. Taki brak zależności liczby biwalentów

bez rekombinacji od wieku jest zgodny ze wspomnianą wyżej koncepcją „dwóch uderzeń" mówiącą, że powstanie wrażliwej konfiguracji mejotycznej jest czynnikiem ryzyka dla zajścia nondysjunkcji niezależnym od wieku matki.

Wzory rekombinacji o największej niestabilności a zarazem podatności na wystąpienie trisomii 21 to wymiana odcinków chromosomów w okolicy centromerowej lub telomerowej [51]. Rekombinacja blisko telomeru w obrębie długiego ramienia chromosomu 21 podnosi ryzyko nondysjunkcji podczas MI, natomiast rekombinacja okołocentromerowa przyczynia się do NDJ w trakcie MII [63, 93]. Badania przeprowadzone u ludzi, much i drożdży wykazały, że rekombinacja zlokalizowana proksymalnie jest bardziej efektywna w zapewnieniu właściwej mejotycznej segregacji chromosomów niż ta usytuowana dystalnie, jednakże może ona przyczynić się do przedwczesnego rozdzielenia chromatyd siostrzanych [43, 76]. Obie z tych mejotycznych konfiguracji predysponują do wystąpienia nondysjunkcji w trakcie MI w młodszych grupach wiekowych. Świadczy to o tym, że największym czynnikiem ryzyka dla powstania NDJ u młodych kobiet jest tworzenie podatnych na błędy konfiguracji podczas pierwszego podziału mejotycznego, głównie pojedynczych rekombinacji w okolicy telomeru [52].

Pojedyncza rekombinacja w regionie telomeru 21q stanowi ryzyko dla nondysjunkcji w MI niezależnie od wieku matki [52, 64, 93]. Dystalna wymiana odcinków homologicznych chromosomów skutkuje heterozygotycznością wśród trisomicznych potomków – w zygocie oprócz chromatydy pochodzenia ojcowskiego obecne są dwie chromatydy pochodzące z różnych chromosomów homologicznych matki.

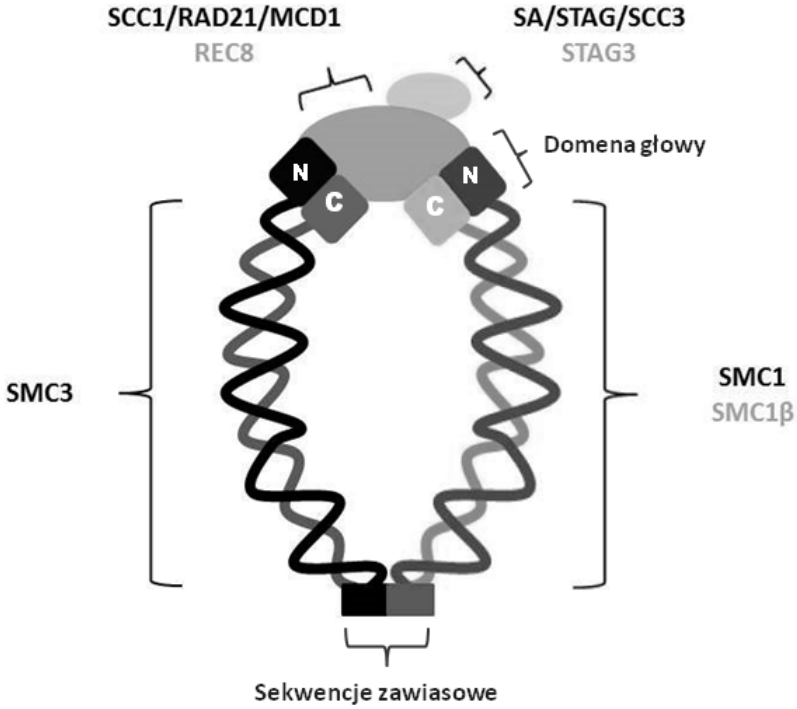
Ryzyko nondysjunkcji w trakcie MII związane z kolei jest z pojedynczą rekombinacją w obrębie pericentromerowego regionu 21q (w najbardziej proksymalnym odcinku o długości 5,2 Mpz). NDJ po zajściu rekombinacji w tym regionie skutkuje obecnością dwóch chromatyd tego samego chromosomu homologicznego w komórce potomnej a następnie w zygocie. Badania wykazały, że pojedyncze *crossing-over* w regionie proksymalnym chromosomu 21 jest czynnikiem ryzyka NDJ zależnym od wieku matki i że taką lokalizację pojedynczej rekombinacji obserwuje się częściej u kobiet starszych [30]. W przypadku tych kobiet obserwowano większą częstość wystąpienia trisomii 21, będącej rezultatem nondysjunkcji w MII. Sugeruje to więc, że konfiguracja rekombinacyjna, polegająca na wymianie chromatyd w regionie pericentromerycznym, pozwala na właściwą segregację chromosomów homologicznych w MI, ale sprzyja nieprawidłowemu rozdziałowi chromatyd siostrzanych w MII. *Crossing-over* zachodzące blisko centromeru stwarza więc warunki dla ujawnienia się innych czynników ryzyka związanych z wiekiem matki. Jednym z takich czynników może być degradacja białka odpowiedzialnego za kohezję chromosomów w regionie centromerowym w MI zwanego shugoshiną (shugoshina – po japońsku „strażnik duszy") [80]. Wyniki badań wykazały, że za lokalizację shugosihiny w okolicy

centromeru odpowiedzialne jest białko BubR1 (kinaza serynowo-treoninowa, element punktu kontrolnego wrzeciona podziałowego), którego ekspresja zmniejsza się wraz z wiekiem kobiet [4, 67]. Rekombinacja, która ma miejsce w okolicy centromeru może więc być czynnikiem sprzyjającym pogarszaniu się kohezji chromatyd w tym regionie chromosomu.

POGORSZENIE KOHEZJI CHROMOSOMÓW

Uważa się, że przedwczesna utrata kohezji pomiędzy chromatydami siostrzanymi chromosomów homologicznych, oprócz wspomnianej wyżej zaburzonej rekombinacji, jest istotnym mechanizmem nondysjunkcji. Związek między przedwczesnym rozdzieleniem chromatyd a lokalizacją chiazm i wiekiem matki obserwowano u myszy [18, 19] a wyniki analiz wykonanych z wykorzystaniem materiału ludzkiego pokazały, że przedwczesne rozdzielenie chromatyd dotyczy głównie chromosomów o niewielkich rozmiarach, tj. chromosomów z grupy E bądź G, do której należy chromosom 21 [15, 28].

Kohezja między chromatydami siostrzanymi chromosomów ustanawiana jest na całej długości chromosomu w fazie S cyklu komórkowego w trakcie replikacji DNA a odpowiedzialny jest za nią białkowy kompleks kohezyjny, tzw. kohezyna oraz białka koordynujące jego rozpad [50, 73]. Kohezja chromatyd siostrzanych jest warunkiem niezbędnym dla prawidłowej segregacji chromosomów podczas podziału komórki, wymagana jest bowiem dla utrzymywania zrekombinowanych homologów razem i właściwego ich zorientowania w płaszczyźnie równikowej komórki do czasu ich prawidłowego rozdzielenia do naprzeciwległych biegunów w MI. Podczas MI kohezyna zlokalizowana jest zarówno wzdłuż ramion chromosomów jak i w centromerach chromosomów. W anafazie I następuje uwolnienie kohezyny z ramion chromosomów, dzięki aktywności enzymu zwanego separazą, co umożliwia segregację zrekombinowanych chromosomów homologicznych do komórek potomnych [47, 73]. Kohezja w regionach centromerowych jest znacznie silniejsza niż w ramionach chromosomów. Zadaniem kohezyny jest bowiem utrzymanie spójności w centromerze, tak silnej, aby oparła się ona siłom rozciągającym wrzeciona kariokinetycznego aż do końca metafazy. Ponadto centromerowe kompleksy kohezyjne warunkują właściwą orientację kinetochorów w stosunku do biegunów wrzeciona. W chromosomach metafazy II kohezja w centromerach nadal jest utrzymywana, natomiast podczas przejścia z metafazy II do anafazy II działanie separazy umożliwia rozdzielenie chromatyd siostrzanych i ich segregację do komórek potomnych. Wydaje się, że dla prawidłowej segregacji chromosomów podczas podziału mejotycznego niezbędna jest przede wszystkim kohezja chromatyd siostrzanych w rejonie centromeru a kohezja w obrębie ramion chromosomów ma nieco mniejsze znaczenie [16, 19].



RYCINA 2. Białka kompleksu kohezyjnego. Białka SMC1 i SMC3 posiadają globularne domeny C- i N-końcowe, dwie części centralne o strukturze helisy α rozdzielone globularną domeną zawiasową. Dzięki tej domenie zgięcie cząsteczki powoduje zbliżenie do siebie końcowych domen globularnych, które w ten sposób tworzą domenę typu głowy o aktywności ATPazy. Domeny głowy obu białek SMC są fizycznie połączone z podjednostką SCC1/RAD21/MCD1, dzięki czemu następuje zamknięcie pierścienia kompleksu kohezyjnego. Strukturę tę dopełnia białko SCC3 (znane też jako SA i STAG) połączone bezpośrednio z białkiem SCC1. U ssaków specyficzne mejotycznie i gatunkowo paralogi tych białek to: SMC1β (wariant dla SMC1), REC8 (wariant dla SCC1/RAD21) oraz STAG3 (wariant dla SA/STAG/SCC3) [16, 58]

FIGURE 2. Proteins of cohesin complex. SMC1 and SMC3 proteins have C- and N-terminal globular domains, two central α-helices separated by globular hinge domain. Due to this hinge domain the terminal globular domains of SCM proteins come close to each other to form head domain of ATPase activity. Head domains of two SMC proteins are physically connected to SCC1/RAD21/MCD1 subunit, thereby forming a ring structure. The structure is supplemented by SCC3 protein (also known as SA and STAG) connected directly to the protein SCC1. In mammals meiosis- and species-specific paralogs of the above mentioned proteins are: SMC1β (variant of SMC1), REC8 (variant of SCC1/RAD21) and STAG3 (variant of SA/STAG/SCC3) [16, 58]

Kompleks białek kohezyjnych, po raz pierwszy został scharakteryzowany u *Saccharomyces cerevisiae* i *Xenopus laevis* [16, 54, 58]. Białka kompleksu kohezyjnego były wykrywane i opisywane u różnych organizmów przez różnych autorów, stąd w literaturze naukowej spotykane są ich różne oznaczenia [16]. Kompleks

kohezyjny obecny w komórkach somatycznych składa się z 4 podjednostek tworzących strukturę pierścienia: dwóch białek należących do rodziny SMC (SMC1 i SMC3; ang. *Structural Maintenance of Chromosome*), regulujących strukturalną i funkcjonalną organizację chromosomów, białka należącego do rodziny kleizyn (SCC1/RAD21/MCD1) niezbędnego do utrzymania kohezji oraz białka z grupy stromalin (SCC3/SA/STAG), które również uczestniczy w utrzymaniu kohezji (ryc. 2) [16]. W komórkach rozrodczych z kolei występują podjednostki specyficzne mejotycznie i gatunkowo. U ssaków mejotycznymi paralogami SMC1, SCC1/RAD21 oraz SA/STAG1/2 są odpowiednio SMC1β, REC8 oraz STAG3 (ryc. 2). Te trzy podjednostki kohezyny podlegają ekspresji jedynie w komórkach rozrodczych i nie biorą udziału w mitotycznej segregacji chromosomów [16]. Białko SMC1β, występuje jedynie w komórkach kręgowców [74]. Ze względu na możliwość tworzenia wielorakich kombinacji mejotycznie specyficznych i niespecyficznych podjednostek kohezyny, istnieje duża różnorodność w konfiguracji kompleksu kohezyjnego regulującego mejotyczną dynamikę chromosomów.

Po zajściu *crossing-over* w profazie MI chromosomy homologiczne połączone są ze sobą w miejscach zwanych chiazmami określającymi miejsce rekombinacji a kompleks kohezyjny jest czynnikiem stabilizującym chiazmy [50]. U kobiet długoletnie zatrzymanie podziału mejotycznego w stadium diktiotenu w komórkach jajnika sprawia, że zachowanie kohezji chromatyd siostrzanych i chiazm jest konieczne aż do wznowienia podziału mejotycznego. Okazuje się jednak, że wraz ze wzrostem wieku matki w „zatrzymanych" oocytach następuje stopniowy spadek kohezji pomiędzy chromatydami siostrzanymi. Przyczyną tego jest degradacja białek kohezyjnych specyficznych dla podziału mejotycznego – białka Rec8 bądź białka kohezyjnego SMC1 [34, 55, 87, 89]. Konsekwencją degradacji tych białek jest podatność chromosomów do tworzenia niestabilnych konfiguracji w momencie wznowienia mejozy oraz destabilizacja chiazm, co uniemożliwia właściwą orientację chromosomów we wrzecionie kariokinetycznym MI [6].

W badaniach Hodgesa i wsp. [34], które potwierdziły istnienie zależności pomiędzy wiekiem matki a kohezją i rozmieszczeniem chiazm w chromosomach oceniano znaczenie białka SMC1β dla prawidłowego przebiegu mejozy. Analizowano oocyty będące na etapie mejotycznej profazy pochodzące od myszy znokautowanych, które nie posiadały aktywnego genu dla białka SMC1β. W oocytach takich myszy w porównaniu z myszami, które posiadały aktywny gen stwierdzono mniejszą liczbę chiazm, zmianę ich lokalizacji w kierunku położenia bardziej dystalnego, pojawianie się dużej liczby uniwalentów i pojedynczych chromatyd, które nie były obserwowane w oocytach myszy z prawidłowym genem. Zmiany te nasilały się wraz ze wzrostem wieku myszy [34]. Uzyskane wyniki wskazują więc, że brak białka SMC1β i związana z tym degradacja kompleksu kohezyjnego może u samic stanowić przyczynę licznych aneuploidii, prowadzących do niepłodności bądź wad wrodzonych u potomstwa. Autorzy badań zasugerowali również, że taki proces de-

gradacji białek kompleksu kohezyjnego zachodzi również podczas mejozy u człowieka [34]. Wyniki uzyskanych badań pokazały również, że obserwowana redukcja zdarzeń rekombinacyjnych jest także bezpośrednim wynikiem nieprawidłowości w tworzeniu kompleksu synaptemalnego (KS), białkowej struktury wspierającej mejotyczną rekombinację, dzięki której znajdujące się naprzeciw siebie chromosomy homologiczne tworzą w pachytenie synapsę [34]. U znokautowanych myszy obserwowano bowiem zredukowanie długości kompleksu synaptemalnego o ok. 30% w stosunku do długości kompleksu obserwowanego u myszy typu dzikiego (wyznaczonego poprzez zsumowanie długości wszystkich KS w komórce) [34].

NIEPRAWIDŁOWE FUNKCJONOWANIE PUNKTU KONTROLNEGO WRZECIONA

Prawidłowy przebieg cyklu komórkowego uwarunkowany jest funkcjonowaniem punktów kontrolnych cyklu, których działanie polega na przekazywaniu informacji o stanie komórki i w miarę potrzeby zatrzymywaniu cyklu. Punktem kontrolnym umożliwiającym prawidłową segregację chromosomów jest punkt kontrolny wrzeciona (ang. *Spindle Assembly Checkpoint,* SAC,), który warunkuje zatrzymanie podziału komórkowego w stadium metafazy do momentu prawidłowego powiązania mikrotubul z kinetochorami [78]. Zdarzenie to jest potrzebne do uzyskania przez chromosomy stabilnej orientacji w płaszczyźnie równikowej komórki, koniecznej do zainicjowania anafazy, a następnie do prawidłowego rozdzielenia chromosomów homologicznych [86]. Okazuje się, że funkcjonowanie SAC jest mniej skuteczne w pierwszym podziale mejotycznym (MI) niż w mitozie. W komórkach mitotycznych obecność nawet jednego uniwalentnego chromosomu warunkuje aktywację SAC, podczas gdy w komórkach mejotycznych jest to zależne od płci oraz wieku [41]. Z badań przeprowadzonych na myszach wiadomo, że mechanizm punktu kontrolnego wrzeciona w MI u mysich samic, inaczej niż to jest u samców, dopuszcza możliwość kontynuacji podziału komórkowego w obecności nawet kilku uniwalentów [61]. Ponadto wyniki badań wskazujące na zaburzoną ekspresję genów warunkujących prawidłową funkcję SAC w starszych oocytach dowodzą, że działanie SAC pogarsza się wraz z wiekiem [79, 93]. Także u ludzi zaobserwowano obniżoną ekspresję białek MAD2L1 oraz BUB1, które aktywują mitotyczny punkt kontrolny wrzeciona podziałowego poprzez hamowanie aktywności kompleksu inicjującego anafazę (APC, ligaza ubikwitynowa) [40, 67]. Tak więc nieprawidłowe funkcjonowanie SAC przyczynia się do przedwczesnego uaktywnienia APC. Kompleks ten odpowiedzialny jest za poliubikwitynację cykliny B (składnik czynnika promującego mitozę/mejozę) oraz za degradację sekuryny (enzym hamujący aktywność separazy hydrolizującej białka kohezyny). Mimo, iż do pomyślnego ukończenia MI konieczna jest degradacja obu tych składników to przedwczesna

aktywacja APC może skutkować rozpoczęciem anafazy w oocytach bez prawidłowego ustawienia się chromosomów w płytce metafazalnej MI i w konsekwencji nieprawidłowym rozdziałem chromosomów do komórek potomnych prowadzącym do wystąpienia aneuploidii.

MOZAICYZM JAJNIKA

Główną przyczyną zespołu Downa jest mejotyczna nondysjunkcja (95% przypadków), jednakże błędy w podziale mitotycznym zygoty lub komórek jajnika mogą również spowodować pojawienie się komórek trisomicznych [29, 66, 77]. Tego typu nieprawidłowości prowadzą do powstania mozaikowych kariotypów, których cechą jest obecność u jednej osoby zarówno komórek nieprawidłowych (trisomicznych) jak i komórek prawidłowych (disomicznych). Badania jajników pochodzących z prawidłowych płodów usuniętych z powodów socjalnych wykazały, że od 0,20% do 0,88% komórek jajników zawierało dodatkowy chromosom 21 [35]. Z kolei badania komórek jajników i oocytów młodych kobiet, które urodziły dzieci z zespołem Downa wykazały, że procent komórek z nieprawidłową liczbą chromosomów może być znacznie wyższy i wynosić: od 15 do 92 [35]. Mozaicyzmem jajników można także wyjaśniać stosunkowo wysoką częstość rodzenia dzieci z trisomią 21 przez bardzo młode, nieletnie matki. Błędy prowadzące do pojawiania się komórek aneuploidalnych zachodzą w trakcie podziałów komórek jajnika [35]. Mimo to, istnieje zależność między wzrostem wieku matki a ryzykiem wystąpienia mitotycznej trisomii 21 u dziecka. Może ona być związana ze zmianą puli oocytów na różnym etapie rozwoju organizmu. Okres życia płodowego do siódmego miesiąca ciąży to jedyny czas, w którym następuje gwałtowny wzrost liczby oocytów, a tak szybki przyrost liczby komórek sprzyja zachodzeniu błędów podczas intensywnych podziałów mitotycznych [35]. Pod koniec ciąży następuje z kolei gwałtowny spadek liczby oocytów, następnie do momentu pokwitania jest on nieco wolniejszy, aby jeszcze bardziej spowolnić w okresie reprodukcyjnym. Ze względu na to, że redukcji podlegają oocyty dojrzałe, wraz ze wzrostem wieku kobiety procentowy udział wolniej dojrzewających aneuploidalnych oocytów zwiększa się w ogólnej puli komórek rozrodczych. Hulten i wsp. [35] zasugerowali, że mozaicyzm jajników może być dominującym czynnikiem leżącym u podstaw predyspozycji do urodzenia dziecka z zespołem Downa. Autorzy tej koncepcji założyli, że dla poszczególnych rodziców ta predyspozycja zależy od proporcji komórek trisomicznych w stosunku do komórek prawidłowych w dojrzałych gonadach wynikająca z opóźnionego rozwoju komórek nieprawidłowych a także z selekcji komórek rozrodczych podczas oogenezy czy spermatogenezy. Tak więc dla bardzo młodych kobiet posiadających jajniki o wysokim stopniu mozaicyzmu ryzyko urodzenia dziecka z trisomią jest wysokie. Jeżeli z kolei stopień mozaicyzmu jest niewielki to wzrost odsetka później dojrzewających oocytów trisomicznych w jajniku

sprawia, że dla danej osoby jest większe ryzyko urodzenia dziecka w późniejszym okresie reprodukcyjnym [35]. Pomimo wielu badań nad prawdziwością koncepcji zaproponowanej przez Hultena i wsp. [35] istnieją jednak sprzeczne dane uzyskane z analiz nad powiązaniem mozaicyzmu jajnika z etiologią zespołu Downa. Rowsey i wsp. [77] zaprzeczają tej teorii i sugerują, że za wzrost częstości trisomii 21 wraz z wiekiem matki odpowiedzialne są inne czynniki niż premejotyczna NDJ.

WIEK OJCA

Znaczenie wieku ojca jako czynnik ryzyka dla zespołu Downa budzi wiele wątpliwości, co wynika ze sprzecznych danych uzyskanych z badań dotyczących tego zagadnienia. Już na początku XX wieku sugerowano, że podatność na trisomię 21 zwiększa zarówno dojrzały wiek matki jak i ojca, jednakże wyniki badań prowadzonych w późniejszych latach były niejednoznaczne i wskazywały na istnienie bądź brak takiej zależności [26, 36, 82, 84]. Wydaje się, że wiek ojca może być istotnym czynnikiem ryzyka dla powstawania trisomii 21 przy jednoczesnym powiązaniu go z wiekiem matki wyższym niż 35 lat [1, 69]. Korelacja taka może maskować rzeczywisty efekt wieku ojca, stąd obserwowane różnice w wynikach wspomnianych wyżej badań.

Badania wykazały, że NDJ pochodzenia ojcowskiego jest źródłem trisomii 21 tylko w 5-10% przypadków i dotyczyć ona może zarówno MI jak i MII [36, 90]. W odróżnieniu od aneuploidii matczynego pochodzenia, której przyczyną są głównie nieprawidłowości zachodzące w MI, w aneuploidii pochodzenia ojcowskiego liczba błędów zachodzących w MI i MII jest podobna [32]. Źródłem ojcowskiej NDJ podczas mejozy I może być redukcja liczby *crossing-over* w obrębie chromosomu 21 i obecność tylko jednej chiazmy [32].

Przewaga matczynego pochodzenia trisomii 21 nad ojcowskim prawdopodobnie wynika z różnicy w przebiegu mejozy oraz z osłabionej zdolności punktów kontrolnych do eliminowania błędów rekombinacji bądź koniugacji chromosomów [49]. Podział mejotyczny u mężczyzn, inaczej niż u kobiet, zapoczątkowany jest dopiero w okresie dojrzewania i nie jest zatrzymywany. Ciągłość mejozy zmniejsza więc ryzyko gromadzenia defektów negatywnie wpływających na ten proces. Prócz tego, mechanizmy kontrolne cyklu komórkowego w odmienny sposób nadzorują przebieg oogenezy i spermatogenezy [60]. Jak wcześniej wspomniano brak białka SMC1β może sprzyjać powstawaniu aneuploidii. W badaniach na myszach stwierdzono, że u samców taka anomalia jest związana z całkowitym zatrzymaniem mejozy w stadium profazy z powodu zaburzonego parowania chromosomów homologicznych, nieprawidłowego tworzenia kompleksu synaptemalnego bądź nieprawidłowej rekombinacji, podczas gdy u samic mejoza jest kontynuowana i prowadzi do powstawania gamet aneupliodalnych [34].

INNE CZYNNIKI RYZYKA

Badania nad pochodzeniem trisomii 21 wskazują na istotną rolę czynników zewnętrznych, jako prawdopodobnych elementów mogących wpływać na ryzyko urodzenia dziecka z zespołem Downa. W literaturze rozważane są takie potencjalne czynniki ryzyka ludzkich aneuploidii jak alkohol [7, 42], promieniowanie [5, 48], antykoncepcja hormonalna [31], techniki wspomaganego rozrodu [70], waga urodzeniowa [10], niski status ekonomiczno-społeczny [38]. Ich znaczenie w indukcji NDJ chromosomu 21 jest jednak wciąż niejednoznaczne. Poniżej wymienione są najczęściej rozpatrywane, chociaż także wzbudzające wiele dyskusji czynniki ryzyka trisomii 21.

Polimofizm genów związanych z metabolizmem kwasu foliowego

Kwas foliowy należy do grupy folianów – związków koniecznych dla syntezy prekursorów DNA i RNA a zaburzenia w metabolizmie kwasu foliowego prowadzą do hypometylacji genomowego DNA [92]. Konsekwencją zaburzeń w metylacji DNA mogą być mutacje punktowe, mikrojądra a także nieprawidłowa rekombinacja chromosomów prowadząca do aneuploidii [83].

Badania poziomu metylacji DNA u matek dzieci z zespołem Downa pozwoliły zaobserwować związek między prawdopodobieństwem urodzenia dziecka z zespołem Downa a polimorfizmem genów zaangażowanych w szlak metabolizmu kwasu foliowego [11]. Jedne z analizowanych polimorfizmów dotyczyły mutacji genu *MTHFR* zlokalizowanego na chromosomie 1 (1p36.3) kodującego reduktazę metylenotetrahydrofolianową (EC 1.5.1.20). Mutacja tego genu skutkuje obniżeniem aktywności enzymu i zwiększeniem poziomu homocysteiny w osoczu krwi. Przy niedoborze kwasu foliowego może to indukować hypometylację centromerowego DNA, czego rezultatem jest zmiana struktury chromatyny skutkująca zaburzeniem interakcji między DNA a białkami, koniecznej dla kohezji w regionach centromerów oraz prawidłowej mejotycznej segregacji chromosomów. Stwierdzono, że polimorfizm punktowy (ang. *Single Nucleotide Polymorphism,* SNP) będący wynikiem mutacji genowej obserwowanej w genie *MTHFR* w pozycji 677 (C677T) jest związany z większym ryzykiem urodzenia dziecka z zespołem Downa [11, 21, 65, 72]. Analizowano również polimorfizmy w genie *MTRR* zlokalizowanym na chromosomie 5 (5p15.3-p15.2), kodującym reduktazę syntazy metioninowej (http://www.genenames.org/useful/symbol-report-documentationEC 1.16.1.8), związanej również z metabolizmem kwasu foliowego. Wykazano, że związek z podwyższonym ryzykiem urodzenia dziecka z zespołem Downa może mieć polimorfizm obserwowany w pozycji 66 (A66G) tego genu [71]. Innym genem, który jest brany pod uwagę jako czynnik ryzyka dla zespołu Downa jest gen *RFC-1* zlokalizowany na chromosomie 21 (21q22.3). Gen ten koduje nośnik zredukowanych folianów, którego

funkcją jest transportowanie do różnych komórek 5-metylotetrahydrofolianu, metabolicznie aktywnej formy kwasu foliowego. Wyniki badań sugerują, że polimorfizm genu *RFC-1* (A80G) może być związany z ryzykiem urodzenia dziecka z zespołem Downa [91]. Podobną zależność stwierdzono dla polimorfizmu genu *CBS* (T833C; lokalizacja chromosomowa 21q22.3) kodującego β-syntazę cystationinową (*EC* 4.2.1.22), enzym również związany z metabolizmem folianów [91]. Mutacje w obu wymienionych wyżej genach występujące oddzielnie 1,5-krotnie zwiększają ryzyko urodzenia dziecka z trisomią 21, natomiast połączona obecność zmutowanych alleli obu genów (*RFC-1* i *CBS*) w układach homozygotycznych zwiększa ryzyko urodzenia dziecka z zespołem Downa prawie 5-krotnie [91]. Takie zwiększone ryzyko wystąpienia zespołu Downa w przypadkach jednoczesnego występowania polimorfizmów obserwowano także w przypadku innych genów, np. genów *MTHFR*, *RFC-1* oraz *MTHFD* [13, 21, 53]. Polimorfizm w obrębie genu *RFC-1* powiązano nie tylko z zakłóceniem segregacji chromosomów prowadzącej do aneupliodii, ale także ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia wrodzonych wad serca obserwowanych w zespole Downa [56].

Wyniki badań dotyczących znaczenia polimorfizmów DNA dla ryzyka NDJ są niejednoznaczne, w wielu badaniach bowiem nie stwierdzono, aby polimorfizm genów był czynnikiem ryzyka dla zespołu Downa a uzyskiwane wyniki były także zróżnicowane w zależności od badanej populacji [13, 53, 62, 81]. Ponadto otrzymane pozytywne wyniki dotyczyły tylko występowania zwiększonego ryzyka NDJ prowadzącej do trisomii 21. Analiza związku polimorfizmów DNA z innymi aneploidiami dawała na ogół wyniki negatywne [8].

Palenie tytoniu

Toksyczne substancje zawarte w dymie papierosowym indukują aberracje chromosomalne, które mogą być przyczyną choroby nowotworowej [17]. W badaniach amniocytów uzyskanych od kobiet ciężarnych i hodowanych w obecności nikotyny obserwowano wysoką częstość aberracji, zarówno strukturalnych jak i liczbowych dotyczących chromosomów 21, 22, 8, 15 i 20 [22]. Przypuszcza się więc, że palenie tytoniu przez przyszłą matkę może zwiększyć prawdopodobieństwo urodzenia dziecka z aneuploidią dotyczącą chromosomu 21. Niektóre badania wykazały korelację między paleniem w okresie okołokoncepcyjnym a wystąpieniem trisomii 21, w innych badaniach nie wykazano takiej zależności [31, 95]. W badaniach, w których powiązano palenie tytoniu z zespołem Downa obserwowano błędy w MII u kobiet poniżej 35 roku życia [94]. Aberracje chromosomowe obserwowano także w plemnikach palących mężczyzn. Badania dotyczące chromosomu 3 oraz chromosomów płci wykazały, iż chromosomy te mogą ulegać nieprawidłowej segregacji podczas mejozy – obserwowano istotny wzrost częstości występowania disomicznych plemników w grupie mężczyzn palących w porównaniu z grupą kontrolną

(mężczyźni nie palący papierosów) [68]. Wyniki badań wykazały, że chromosom 3 może być szczególnie wrażliwy na działanie toksyn obecnych w dymie papierosowym. Analizy dotyczące chromosomów płci wykazały wzrost częstości disomii XY w grupie osób palących, a także to, że uszkodzenia, które mogą prowadzić do powstania disomicznych plemników z chromosomami X i Y mogą mieć miejsce zarówno w MI jak i w MII [68].

Bisfenol A (BPA)

Badania na myszach dowiodły, że aneuploidia może być indukowana przez związki chemiczne zaburzające gospodarkę hormonalną [41, 88]. BPA to związek chemiczny wykorzystywany w produkcji przedmiotów gospodarstwa domowego takich jak butelki dla dzieci, pojemniki przechowujące żywność, plastikowe opakowania itp. Stanowi on główny składnik tworzyw poliwęglanowych i poprzez powinowactwo do receptorów estrogenowych zaburza najwcześniejsze etapy rozwoju oocytów myszy oraz małp wąskonosych [37, 85]. Badania przeprowadzone u kobiet leczonych metodami wspomaganego rozrodu wykazały, że poziom BPA we krwi matki oraz w płynie pęcherzykowym jest odwrotnie proporcjonalny w stosunku do tempa dojrzałości oocytów [27]. Badania ludzkich oocytów poddanych działaniu BPA wykazały, że pod wpływem tego związku zmniejsza się liczba komórek, które osiągają MII i jednocześnie zwiększa się liczba oocytów zdegenerowanych [57]. Ponadto stwierdzono, iż narażenie ciężarnych na działanie niskich stężeń tego związku powoduje zakłócenia w przebiegu profazy w jajnikach u płodu, co widoczne jest jako zmiany w rozmieszczeniu i liczbie miejsc rekombinacji oraz jako zaburzenia w koniugacji chromosomów [12]. W badaniach z wykorzystaniem komórek ssaków obserwowano po działaniu BPA wytwarzanie ektopowego wrzeciona kariokinetycznego, czego skutkiem było powstawanie aneuploidalnych komórek, zarówno po podziale mitotycznym jak i mejotycznym [24, 57]. Eichenlaub-Ritter i Pacchierotti [23] obserwowali, że przewlekła ekspozycja myszy na bisphenol A indukuje przedwczesne rozdzielenie chromatyd podczas MII. W badaniach z wykorzystaniem myszy wykazano również związek między ekspozycją myszy na BPA a nieprawidłowym wzrostem oocytów we wczesnym etapie ich rozwoju [3].

LITERATURA

[1] Agopian AJ, Marengo LK, Mitchell LE. Predictors of trisomy 21 in the offspring of older and younger women. *Birth Defects Res A* 2012; **94**: 31-35.

[2] Alberman E, Mutton D, Morris JK. Cytological and epidemiological findings in trisomies 13, 18, and 21: England and Wales 2004-2009. *Am J Med Genet A* 2012; **158A**: 1145-1150.

[3] Allard P, Colaiácovo MP. Bisphenol A impairs the double-strand break repair machinery in the germline and causes chromosome abnormalities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; **107:** 20405-20410.

[4] Baker DJ, Dawlaty MM, Wijshake T, Jeganathan KB, Malureanu L,van Ree JH, Crespo-Diaz R, Reyes S, Seaburg L, Shapiro V, Behfar A, Terzic A, van de Sluis B, van Deursen JM. Incerased expression BubR1 protects against aneuploidy and cancer and extends healthy lifespan. *Nat Cell Biol* 2013; **15**: 96-102.

[5] Bakhoum SF, Kabeche L, Wood MD, Laucius CD, Qu D, Laughney AM, Reynolds GE, Louie RJ, Phillips J, Chan DA, Zaki BI, Murnane JP, Petritsch C, Compton DA. Numerical chromosomal instability mediates susceptibility to radiation treatment. *Nat Commun* 2015; **6**: Article number 5990. doi:10.1038/ncomms6990.

[6] Bardhan A. Complex regulation of sister kinetochore orientation in meiosis-I. *J Biosci* 2010; **35**: 485-495.

[7] Benassi-Evans B, Fenech M. Chronic alcohol exposure induces genome damage measured using cytokinesis-block micronucleus cytome assay and aneuploidy in human Blymphoblastoid cell lines. *Mutagenesis* 2011; **26**: 421-429.

[8] Bispo AV, dos Santos LO, de Barros JV, Araújo J, Muniz MT, Santos N. *Am J Med Genet A* 2015; **167**: 1510-1517.

[9] Bleazard T, Ju YS, Sung J, Seo J-S. Fine-scale mapping of meiotic recombination in Asians. *BMC Genet* 2013; **14**: 19.

[10] Boghossian NS, Horbar JD, Carpenter JH, Murray JC, Bell EF, VERMONT OXFOR NETWORK. Major chromosomal anomalies among very low birth weight infants in the Vermont Oxford Network. *J Pediatr* 2012; **160**: 774-780.e11.

[11] Božović IB, Stanković A, Živković M, Vraneković J, Kapović M, Brajenović-Milić B. Altered LINE-1 methylation in mothers of children with Down syndrome. *PLOS One* 2015; **10**: e0127423.

[12] Brieño-Enriquez MA, Robles P, Camats-Tarruella N, Garcia-Cruz R, Roig I, Cabero L, Martinez F, Caldés MG. Human meiotic progression and recombination are affected by bisphenol A exposure during *in vitro* human oocyte development. *Hum Reprod* 2011; **26**: 2807-2818.

[13] Brlandalize APC, Bandinelli E, Santos PA, Schüler-Faccini L. Maternal gene polymorphisms involved in folate metabolism as risk factors for Down syndrome offspring in Southern Brazil. *Dis Markers* 2010; **29**: 95-101.

[14] Broman KW, Murray JC, Sheffield VC, White RL, Weber JL. Comprehensive human genetic maps: individual and sex-specific variation in recombination. *Am J Hum Genet* 1998; **63**: 861-869.

[15] Capalbo A, Bono S, Spizzichino L, Biricik A, Baldi M, Colamaria S, Ubaldi FM, Rienzi L, Fiorentino F. Sequential comprehensive chromosome analysis on polar bodies, blastomeres and thophoblast: insights into female meiotic errors and chromosomal segregation in the preimplantation window of embryo development. *Hum Reprod* 2013; **28**: 509-518.

[16] Cena A, Kurlandzka A. Sister chromatid cohesion complex in Eukaryota. *Postepy Biochem* 2010; **56**: 41-54.

[17] Chandirasekar R, Suresh K, Sasikala K, Kumar BL, Venkatesan R, Ganesh GK, Jacob R. Genotoxicity assessment in smokeless tobacco users: a case-control study. *Toxicol Ind Health* 2013; **29**: 216-223.

[18] Chiang T, Schultz RM, Lampson MA. Age-dependent susceptibility of chromosome cohesion to premature separase activation in mouse oocytes. *Biol Reprod* 2011; **85**: 1279-1283.

[19] Chiang T, Duncan FE, Schindler K, Schultz RM, Lampson MA. Evidence that weakened centromere cohesion is a leading cause of age-related aneuploidy in oocytes. *Curr Biol* 2010; **20**: 1522-1528.

[20] Choi TY, Lee HM, Park WK, Yeong SY, Moon HS. Spontaneous abortion and recurrent miscarriage: A comparison od cytogenetic diagnosis in 250 cases. *Obstet Gynecol Sci* 2014; **57**: 518-525.

[21] Coppede F, Grossi E, Migheli F, Migliore L. Polymorphisms in folate-metabolizing genes, chromosome damage, and risk of Down syndrome in Italian women: identification of key factors using artifical neural networks. *BMC Med Genomics* 2010; **3**: 42.

[22] Demirhan O, Demir C, Tunc E, Nandiklioglu N, Sutcu E, Sadikoglu N, Ozcan B. The genot oxic effect of nicotine on chromosomes of human fetal cells: the first report described as an important study. *Inhal Toxicol* 2011; **23**: 829-834.

[23] Eichenlaub-Ritter U, Pacchierotti F. Bisphenol A effects on mammalian oogenesis and epigenetic integrity of oocytes: a case study exploring risks of endocrine disrupting chemicals. *BioMed Res Int* 2015; Article ID 698795.

[24] Ferris J, Favetta LA, King WA. Bisphenol A exposure during oocyte maturation in vitro results in spindle abnormalities and chromosome misalignment in Bos taurus. *Cytogenet Genome Res* 2015; **145**; 50-58.

[25] Fisher JM, Harvey JF, Morton NE, Jacobs PA. Trisomy 18: studies of the parent and cell division of origin and the effect of aberrant recombination on nondisjunction. *Am J Hum Genet* 1995; **56**: 669-675.

[26] Fonseka KG, Griffin DK. Is there a paternal age effect for aneuploidy? *Cytogenet Genome Res* 2011; **133**: 280-291.

[27] Fujimoto VY, Kim D, vom Saal FS, Lamb JD, Taylor JA, Bloom MS. Serum unconjugated bisphenol A concentrations in women may adversely influence oocyte quality during in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2011; **95**: 1816-1819.

[28] Garcia-Cruz R, Casanovas A, Brieno-Enriquez M, Robles P, Roig I, Pujol A, Cabero L, Durban M, Darcia Caldés M. Cytogenetic analyses of human oocytes provide a new data on non-disjunction mechanisms and the origin of trisomy 16. *Hum Reprod* 2010; 179-191.

[29] Ghevaria H, Sengupta S, Sarna U, Sargeant S, Serhal P, Delhanty J. The contribution of germinal mosaicism to human aneuploidy. *Cytogenet Genome Res* 2014; **144**: 264-274.

[30] Ghosh S, Bhaumik P, Ghosh P, Dey SK. Chromosome 21 non-disjunction and Down syndrome birth in an Indian cohort: analysis of incidence and aetiology from family linkage data. *Genet Res* 2010; **92**: 189-197.

[31] Ghosh S, Dey SK. Risk factors for Down syndrome birth: understanding the causes from genetics and epidemiology. In Dey SK ed. *Down syndrome.* InTech, 2013; Chapter **9**: 149-172.

[32] Ghosh S, Gochhait S, Banerjee D, Chatterjee A, Sinha S, Nandagopal K. SNaPshot assay in quantitative detection of allelic nondisjunction in Down syndrome. *Genet Test Mol Bioma* 2012; **16**:1226-1235.

[33] Gruhn JR, Rubio C, Broman KW, Hunt PA, Hassold T. Cytological studies of human meiosis: sex--specific differences in recombination originate at, or prior to, establishment of double-strand breaks. *PLoS One* 2013; **8**: e85075.

[34] Hodges CA, Revenkova E, Jessberger R, Hassold TJ, Hunt PA. SMC1beta-deficient female mice provide evidence that cohesins are a missing link in age-related nondisjunction. *Nat Genet* 2005; **37**: 1351-1355.

[35] Hultén MA, Patel SD, Tankimanova M, Westgren M, Papadogiannakis N, Jonsson AM, Iwarsson E. On the origin of trisomy 21 Down syndrome. *Mol Cytogenet* 2008; **1**: 21.

[36] Hultén MA, Patel SD, Westgren M, Papadogiannakis N, Jonsson AM, Jonasson J, Iwarsson E. On the paternal origin of trisomy 21 Down syndrome. *Mol Cytogenet* 2010; **3**: 4. doi: 10.1186/1755-8166-3-4.

[37] Hunt PA, Lawson C, Gieske M, Murdoch B, Smith H, Marre A, Hassold T, Vandevoort CA. Bisphenol A alters early oogenesin and follicle formation in the fetal ovary of the rhesus monkey. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; **109**: 17525-17530.

[38] Hunter JE, Allen EG, Shin M, Bean LJH, Correa A, Druschel C, Hobbs CA, O'Leary LA, Romitti PA, Royle MH, Torfs CP, Freeman SB, Sherman SL. The association of low sosioeconomic status and the risk of having a child with Down syndrome: a report from the National Down Syndrome Project. *Genet Med* 2013; **15**: 698-705.

[39] Hussin J, Roy-Gagnon M-H, Gendron R, Andelfinger G, Awadalla P. Age dependent recombination rates in human pedigrees. *PLoS One* 2011; **7**: e1002251.

[40] Jia L, Kim S, Yu H. Tracking spindle checkpoint signals from kinetochores to APC/C. *Trends Biochem Sci* 2013; **38**: 302-311.

[41] Jones KT, Lane SIR. Chromosomal, metabolic, environmental, and hormonal origins of aneuploidy in mammalian oocytes. *Exp Cell Res* 2012; **318**: 1394-1399.

[42] Jurewicz J, Radwan M, Sobala W, Polańska K, Radwan P, Jakubowski L, Ulańska A, Hanke W. The relationship between exposure to air pollution and sperm disomy. *Environ Mol Mutagen* 2015; **56**: 50-59.

[43] Koehler KE, Boulton CL, Collins HE, French RL, Herman KC, Lacefield SM, Madden LD, Schuetz CD, Hawley RS. Spontaneous X chromosome MI and MII nondisjunction events in Drosophila melanogaster oocytes have different recombinational histories. *Nat Genet* 1996; **14**: 406-414.

[44] Kong A, Barnard J, Gudbjartsson DF, Thorleifsson G, Jonsdottir G, Sigurdardottir S, Richardsson B, Jonsdottir J, Thorgeirsson T, Frigge ML, Lamb NE, Sherman S, Gulcher JR, Stefansson K. Recombination rate and reproductive success in humans. *Nat Genet* 2004; **36**: 1203-1206.

[45] Kong A, Gudbjartsson DF, Sainz J, Jonsdottir GM, Gudjonsson SA, Richardsson B, Sigurdardottir S, Barnard J, Hallbeck B, Masson G, Shlien A, Palsson ST, Frigge ML, Thorgeirsson TE, Gulcher JR, Stefansson K. A high-resolution recombination map of the human genome, *Nat Genet* 2002; **31**: 241-247.

[46] Kong A, Thorleifsson G, Gudbjartsson DF, Masson G, Sigurdsson A, Jonasdottir A, Walters GB, Gylfason A, Kristinsson KT, Gudjonsson SA, Frigge ML, Helgason A, Thorsteinsdottir U, Stefansson K. Fine-scale recombination rate differences between sexes, populations and individuals. *Nature* 2010; **467**: 1099-1103.

[47] Kucej M, Zou H. DNA-dependent cohesin cleavage by separase. *Nucleus* 2010; **1**: 4-7.

[48] Kumar D, Salian SR, Kalthur G, Uppangala S, Kumari S, Challapalli S, Chandraguthi SG, Krishnamurthy H, Jain N, Kumar P, Adiga SK. Semen abnormalities, sperm DNA damage and global hypomethylation in health workers occupationally exposed to ionizing radiation. *PLoS One* 2013; **8**: e69927.

[49] Kurahashi H, Tsutsumi M, Nishiyama S, Kogo H, Inagaki H, Ohye T. Molecular basis of maternal age-related increase in oocyte aneuploidy. *Congenit Anom* 2012; **52**: 8-15.

[50] Kurlandzka A. Tworzenie i rozpad kompleksu kohezyjnego chromatyd siostrzanych, *Post Biol Kom* 2000; **27**: 261-272.

[51] Lamb NE, Feingold E, Savage A, Avramopoulos D, Freeman S, Gu Y, Hallberg A, Hersey J, Karadima G, Pettay D, Saker D, Shen J, Taft L, Mikkelsen M, Petersen MB, Hassold T, Sherman SL. Characterization of susceptible chiasma configurations that increase the risk for maternal nondisjunction of chromosome 21. *Hum Mol Genet* 1997; **6**: 1391-1399.

[52] Lamb NE, Yu K, Shaffer J, Feingold E, Sherman SL. Association between maternal age and meiotic recombination for trisomy 21. *Am J Hum Genet* 2005; **76**: 91-99.

[53] Liao YP, Zhang D, Zhou W, Meng FM, Bao MS, Xiang P, Liu CQ. Combined folate *MTHFD* and *TC*polymorphisms as maternal risk factors for Down syndrome in China. *Genet Mol Res* 2014; **13**: 1764-1773.

[54] Lin W, Wang M, Jin H, Yu H-G. Cohesin plays a dual role in gene regulation and sister-chromatid cohesion during meiosis in *Sachcaromyces cerevisiae. Genetics* 2011; **187**: 1041-1051.

[55] Lister LM, Kouznetsova A, Hyslop LA, Kalleas D, Pace SL, Barel JC, Nathan A, Floros V, Adelfalk C, Watanabe Y, Jessberger R, Kirkwood TB, Höög C, Herbert M. Age-related meiotic segregation errors in mammalian oocytes are preceded by depletion of cohesin and Sgo2. *Curr Biol* 2010; **20**: 1511-1521.

[56] Locke AE, Dooley KJ, Tinker SW, Cheong SY, Feingold E, Allen EG, Freeman SB, Torfs CP, Cua CL, Epstein MP, Wu MC, Lin X, Capone G, Sherman SL, Bean LJ. Variation in folate pathway genes contributes to risk of congenital heart defects among individuals with Down syndrome. *Genet Epidemiol* 2010; **34**: 613-623.

[57] Machtinger R, Combelles Cmh, Missmer Sa, Correia Kf, Williams P, Hauser R, Racowsky C. Bisphenol-A and human oocyte maturation in vitro. *Human Reproduction* 2013; **28**: 2735-2745.

[58] Mehta GD, Rizvi SMA, Ghosh SK. Cohesin: a guardian of genome integrity. *Biochim Biophys Acta* 2012; **1823**; 1324-1342.

[59] Middlebrooks CD, Mukhopadhyay N, Tinker SW, Allen EG, Bean LJH, Begum F, Chowdhury R, Cheung V, Doheny K, Adams M, Feingold E, Sherman SL. Evidence for dysregulation of genome-wide recombination in oocytes with nondisjoined chromosomes 21. *Hum Mol Genet* 2013; **23**: 408-417.

[60] Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet* 2012; **13**: 493-504.

[61] Nagaoka SI, Hodges CA, Albertini DF, Hunt PA. Oocyte-specific differences in cell cycle control create an innate susceptibility to meiotic errors. *Curr Biol* 2011; **21**: 651-657.

[62] Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: metabolism, genes, polymorphisms and the assosiated diseases. *Gene* 2014; **533**: 11-20.
[63] Oliver TR, Middlebrooks CD, Tinker S, Allen EG, Bean LJH, Begum F, Feingold E, Chowdhury R, Cheung V, Sherman SL. An examination of the relationship between hotspots and recombination associated with chromosome 21 nondisjunction. *PLoS One* 2014; **9**: e99560.
[64] Oliver TR, Tinker SW, Allen EG, Hollis N, Locke AE, Bean LJH, Chowdhury R, Begum F, Marazita M, Cheung V, Feingold E, Sherman SL. Altered patterns of multiple recombinant events are associated with nondisjunction of chromosome 21. *Hum Genet* 2012; **131**: 1039-1046.
[65] Pandey SK, Singh A, Polipalli SK, Gupta S, Kapoor S. Association of methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism with BMD and homocysteine in premenopausal North Indian women. *J Clin Diagn Res* 2013; **7**: 2908-2911.
[66] Papavassiliou P, Charalsawadi C, Rafferty K, Jackson-Cook C. Mosaicism for trisomy 21: A review. *Am J Med Genet* 2015; **167A**: 26-39.
[67] Park I, Lee HO, Choi E, Lee YK, Kwon MS, Min K, Park PG, Lee S, Kong YY, Gong G, Lee H. Loss of BubR1 acetylation causes defects in spindle assembly checkpoint signaling and promotes tumor formation. *J Cell Biol* 2013; **202**: 295-309.
[68] Pereira CS, Juchniuk de Vozzi MS, Dos Santos SA, Vasconcelos MAC, De Paz CC, Squire JA, Martelli L. Smoking-induced chromosomal segregation anomalies identified by FISH analysis of sperm. *Mol Cytogenet* 2014; **7**: 58.
[69] Podder G, Banerjee J, Madhusnata. Paternal age combined with maternal age influences the incidence of Down syndrome. *Int J Pharm Clin Res* 2014; **6**: 186-188.
[70] Qi S-T, Liang L-F, Xian Y-X, Liu J-Q, Wang W. Arrested human embryos are more likely to have abnormal chromosomes than developing embryos from women of advanced maternal age. *J Ovar Res* 2014; **7**: 65.
[71] Rai V, Yadav U, Kumar P. MTRR A66G polymorphism among two caste groups of Uttar Pradesh (India). *Indian J Med Sci* 2012; **66**: 136-140.
[72] Rai V, Yadav U, Kumar P. Yadav SK, Mishra OP. Maternal methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and Down syndrome risk: a meta-analysis studies. *PLoS One* 2014; **9**: e108552.
[73] Remeseiro S, Losada A. Cohesin, a chromatin engagement ring. *Curr Opin Cell Biol* 2013; **25**: 63-71.
[74] Revenkova E, Herrmann K, Adelfalk C, Jessberger R. Cohesin expression restricted to the pre-dictyate stages of oocyte development provides full fertiliyu and prevents aneuploidy. *Curr Biol* 2010; **20**: 1529-1533.
[75] Robinson WP, Kuchinka BD, Bernasconi F, Petersen MB, Schulze A, Brondum-Nielsen K, Christian SL, Ledbetter DH, Schinzel AA, Horsthemke B, Schuffenhauer S, Michaelis RC, Langlois S, Hassold TJ. Maternal meiosis I non-disjunction of chromosome 15: dependence of the maternal age effect on level of recombination. *Hum Mol Genet* 1998; **7**: 1011-1019.
[76] Ross LO, Maxfield R, Dawson D. Exchanges are not equally able to enhance meiotic chromosome segregation in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 4979-4983.
[77] Rowsey R, Kashevarova A, Murdoch B, Dickenson C, Woodruff T, Cheng E, Hunt P, Hassold T. Germline mosaicism does not explain the maternal age effect on trisomy. *Am J Med Genet* 2013; **161A**: 2495-2503.
[78] Sacristan C, Kops GJ. Joined at the hip: kinetochores, microtubules, and spindle assembly checkpoint signaling. *Trends Cell Biol* 2015; **25**: 21-28.
[79] Sakakibara Y, Hashimoto S, Nakaoka Y, Koutznetsova A, Höög C, Kitajima TS. Bivalent separation into univalents precedes age-related meiosis I errors in oocytes. *Nature Comm* 2015; **6**: Article number: 7550, doi:10.1038/ncomms8550
[80] Sanyal S, Kovacikova I, Gregan J. Chromosome segregation: disarming the protector. *Curr Biol* 2013; **23**: R236-239.
[81] Seremak-Mrozikiewicz A. Znaczenie metabolizmu folianów w rozwoju powikłań u kobiet ciężarnych. *Ginekol Pol* 2013; **84**: 377-384.

[82] Shalaby HMA. A study of new potential risk factors for Down syndrome in Upper Egypt. *Egypt J Med Hum Genet* 2011; **12**: 15-19.
[83] Silva-Grecco RL, Navarro GC, Cruz RM, Balarin MAS. Micronucleated lymphocytes in parents of Down syndrome children. *Braz J Med Biol Res* 2012; **45**: 573-577.
[84] Steiner B, Masood R, Fibach K, Niedrist D, Kundert O, Riegel M, Schinzel A. An unexpected finding: younger fathers have a higher risk for offspring with chromosomal aneuploidies. *Eur J Hum Genet* 2015; **23**: 466-472.
[85] Susiarjo M, Hassold TJ, Freeman E, Hunt PA. Bisphenol A exposure in utero disrupts early oogenesis in the mouse. *PLoS Genet* 2007; **3**: e5.
[86] Tachibana-Konwalski K, Godwin J, Borsos M, Rattani A, Adams DJ, Nasmyth K. Spindle assembly checkpoint of oocytes depends on a kinetochore structure determined by cohesin in meiosis I. *Curr Biol* 2013; **23**: 2534-2539.
[87] Tachibana-Konwalski K, Godwin J, van der Weyden L, Champion L, Kudo NR, Adams DJ, Nasmyth K. Rec8-containing cohesin maintains bivalents without turnover during the growing phase of mouse oocytes. *Genes Dev* 2010; **24**: 2505-2516.
[88] Trapphoff T, Heiligentag M, el Hajj N, Haaf T, Eichenlaub-Ritter U. Chronic exposure to a low concentration of bisphenol A during follicle culture affects the epigenetic status of germinal vesicles and metaphase II oocytes. *Fertil Steril* 2013; **100**: 1758-1767.
[89] Tsutsumi M, Fujiwara R, Nishizawa H, Ito M, Kogo H, Inagaki H, Ohye T, Kato T, Fujii T, Kurahashi H. Age-related decrease of meiotic cohesins in human oocytes. *PLoS One* 2014; **9**: e96710.
[90] Vraneković J, Božović IB, Grubić Z, Wagner J, Pavlinić D, Dahoun S, Bena F. Čulić V, Brajenović-Milić B. Down syndrome: parental origin, recombination and maternal age. *Genet Test Mol Bioma* 2012; **16**: 70-73.
[91] Wang SS, Wang C, Qiao FY, Lv JJ, Feng L. Polymorphisms in genes RFC-1/CBS as maternal risk factors for Down syndrome in China. *Arch Gynecol Obstet* 2013; **288**: 273-277.
[92] Wang X, Guan Z, Chen Y, Dong Y, Niu Y, Wang J, Zhang, Niu B. Genomic DNA hypomethylation is associated with neural tube defects induced by methotrexate inhibition of folate metabolism. *PLoS One* 2015; **10**: e0121869.
[93] Wang Z-B, Schatten H, Sun Q-Y. Why ischromosome segregation error in oocytes increased with maternal aging? *Physiology* 2011; **26**: 314-325.
[94] Yang Q, Sherman SL, Hassold TJ, Allran K, Taft L, Pettay D, Khoury MJ, Erickson JD, Freeman SB. Risk factors for trisomy 21: maternal cigarette smoking and oral contraceptive use in a population--based case-control study. *Genet Med* 1999; **1**: 80-88.
[95] Zhang J, Lambert-Messerlian G, Palomaki GE, Canick JA. Impact of smoking on maternal serum markers and prenatal screening in the first and second trimesters. *Prenat Diagn* 2011; **31**: 583-588.

Redaktor prowadący – Barbara Płytycz

Otrzymano: 21.03.2015
Przyjęto: 16.07.2015
Alina Błaszczyk
Pracownia Cytogenetyki, Katedra Genetyki Ogólnej, Biologii Molekularnej i Biotechnologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź
e-mail: ablasz@biol.uni.lodz.pl
tel.: 42 635 44 26
fax: 42 535 44 23