

Međunarodni sustav nomenklature u humanoj citogenetici – ISCN 2013. Izmjene i dopune novom izdanju

Leona Morožin Pohovski*

Međunarodni sustav nomenklature u humanoj citogenetici (engl. International System for Human Cytogenetic Nomenclature, ISCN) središnja je referenca za opisivanje kromosomskog sastava u čovjeka. Nedavno objavljeno novo izdanje, ISCN 2013. je cjelovita revizija prehodne publikacije ISCN 2009. Cilj ovog članka je dati pregled izmjena u nomenklaturi u pojedinim poglavljima ISCN-a 2013. u usporedbi s ISCN-om 2009. Smjernice i preporuke namijenjene su citogenetičarima kako bi pomogli pri prijelazu u uporabi najnovije nomenklature za prikazivanje nalaza u citogenetici i molekularnoj citogenetici.

Ključne riječi: kromosomi; citogenetika; kariotip; kromosomske aberacije

Međunarodni sustav nomenklature za humanu citogenetiku (engl. *International System for Human Cytogenetic Nomenclature*, ISCN) sustav je označavanja u citogenetici za prikazivanje i opisivanje kromosomskog sastava - čovjekovog kariotipa upotrebom sustava znakova, oznaka i kratica. Utvrđen 1960. godine na konferenciji u Denveru, priručnik je sadržavao temeljna načela označavanja kromosoma i kromosomskih promjena (1). Smatra se da je suradnja i dalekovidnost sudionika konferencije u Denveru spriječila idućih godina mnoge zabune u nomenklaturi citogenetike koje su bile prisutne u drugim područjima humane genetike. Nomenklatura s Pariške konferencije (1971.) vrlo je značajan dokument u analima humane citogenetike, jer je otkrićem tehnika pruganja u dokumentu prikazan osnovni sustav označavanja pojedinih kromosoma i kromosomskih regija, pruga i podpruga (2). Određeno je da se bročani niz koji označava kromosomske regije, pruge i podpruge navodi od centromere prema telomernom kraju kratkog -p-, odnosno dugog -q- kraka, čime je omogućeno da se strukturne promijene i varijacije u kariotipu prikazuju prema položaju pruga na pojedinom kromosomu. Prvo izdanje priručnika pod nazivom *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (1978.) (ISCN 1978.) obuhvaćalo je sve glavne zaključke s konferencija u Denveru (1969.), Londonu (1963.) i Chicagu (1966.) te s Pariške konferencije (1971.), a u kojem je uređena nomenklatura radi dosljednosti i preciznosti opisanja kromosoma i kromosomskih prestrukturiranja (3).

Tijekom godina uslijedilo je nekoliko novih izdanja u kojima je utvrđeno ustrojstvo označavanja pruga kromosoma različitog stupnja, rezolucije kao i odgovarajući idiogrami rezolucije: 300, 400, 550, 700, i 850 pruga te nomenklatura novih tehnika (*in situ* hibridizacija, komparativna genomska hibridizacija na mikropostroju, metoda višestrukog umnažanja vezanih sondi) (4-9). Najnovije izdanje, objavljeno kao *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (2013.) u usporedbi s ISCN-om 2009. obogaćeno je s nizom novih primjera u gotovo svim poglavljima knjige kao i dodatnim pojašnjenjima u pojedinim poglavljima (10). Prikazana je nova nomenklatura za pojedine tehnike analize kromosoma, koju je potrebno primjenjivati pri pisanju nalaza od 1. srpnja 2013. godine.

U ISCN-u 2013. prvo poglavlje koje daje kratki povijesni pregled te drugo poglavlje *Normalni kromosomi*, koje sadrži opise i prikaze raznih tehnika pruganja (Q-, G-, R-, C-T- i NOR pruge), idiograme i slike kromosoma različite rezolucije nije mijenjano. U poglavlju *Oznake i kratice* (3) u tablici su nave-

* Referentni centar Ministarstva zdravlja RH za praćenje kongenitalnih anomalija, Klinika za pedijatriju Klinike za dječje bolesti Zagreb i Medicinskog fakulteta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Leona Morožin Pohovski, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, 10000 Zagreb

Primljeno/Received: 6. 11. 2013., Prihvaćeno/Accepted: 22. 11. 2013

TABLICA 1. Oznake za opisivanje kariotipa kojima je izmijenjeno (kosa slova) ili prošireno značenje te nove oznake (podebljana slova) koje se primjenjuju u ISCN-u 2013.

Oznake	Značenje
cth	kromotripsis (engl. <i>chromothripsis</i>)
cx	složeno prestrukturiranje
hg	karta humanog genoma (engl. <i>Human genome build or assembly</i>)
neg	nije prisutna preraspodjela za koje je provedeno testiranje
pos	prisutna je preraspodjela za koju je provedeno testiranje
pter	terminalni kraj kratkog kraka kromosoma
qter	terminalni kraj dugog kraka kromosoma
rsa	analiza određene regije engl. <i>Region-Specific Assay</i>
++	dva hibridizacijska signala ili hibridizacijske regije na određenom kromosomu
+	dodatni normalni ili aberantan kromosom; povećanje u dužini; lokus je prisutan na određenom kromosomu
-	gubitak; smanjenje dužine; lokus nije prisutan na određenom kromosomu
;	odvaja izmijenjene kromosome i mjesta lomova u strukturnim preraspodjelama koje uključuju više od jednog kromosoma; razdvaja sonde različitih deriviranih kromosoma;
/	odvaja klonove ili granične sonde

dene sve oznake i kratice te njihovo značenje. Prema novoj nomenklaturi više se ne upotrebljavaju pojedine oznake: ml – engl. *mainline*; mlpa – metoda višestrukog umnažanja vezanih sonde, engl. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*; mn – modalni broj, engl. *modal number*; tan – tandem, dok je pojedinim oznakama i kraticama izmijenjeno ili prošireno značenje te su uvrštene nove oznake (Tablica 1).

U poglavlju o označavanju kariotipa (4), redoslijedu pisanja aberacija kromosoma u kariotipu (6), uredne varijacije kromosoma (7), strukturne preraspodjele kromosoma (9), lomovi kromosoma (10), neoplazije (11) te *in situ* hibridizacija (13) dodana su pojašnjenja u tekstu ili novi primjeri. Tako je u poglavlju 6 o slijedu pisanja kromosomskih aberacija u kariotipu dodan novi primjer:

50,X,+X,-Y,+10,+14,+17,+21[5]/46,XY[15]

Numeričke aberacije kromosoma X navode se prije kromosoma Y.

U poglavlju 7 o urednim varijacijama kromosoma u potpoglavlju *Varijacija u broju i mjestu* (7.1.2) dodan je primjer za kraticu var:

22pvar – promjenjiv prikaz kratkog kraka kromosoma 22.

U poglavlju *Strukturna preraspodjela kromosoma* (9) u potpoglavlju *Derivirani kromosomi* (9.2.3) naveden je primjer pisanja nomenklature strukturnih aberacija koje su prisutne na oba homologna kromosoma. Njihovo razlikovanje određeno je podcrtavanjem jednog od njih, npr.:

46,XY,der(18)t(18;18)(p11.2;q22)

46,XY,der(18)t(18;18)(p11.2;q22)

Dva derivirana kromosoma mogu se razlikovati podcrtavanjem. U prvom primjeru derivirani kromosom je kromosom s mjestom loma u regiji q22. U drugom primjeru derivirani kromosom je homolog s mjestom loma u regiji p11.2.

Prema novoj nomenklaturi za prikazivanje insercija više se ne navode kratice dir (direktan) i inv (inverzija) u kariotipu, jer se nakon pisanja kratice ins (insercija) i broja kromosoma navode kromosomska područja točnim slijedom mjesta lomova u odnosu na centromeru. Stoga više nije potrebno prethodno izražavati kraticom orijentaciju umetnutog segmenta. Primjer:

46,XX,ins(2)(p13q21q31)

46,XX,ins(2)(pter→p13::q31→q21::p13→q21::q31→qter).

Direktna insercija. Dio dugog kraka kromosoma 2 između pruga 2q21 i 2q31 umetnut je u kratki krak kromosoma 2 u regiji 2p13. Izvorni smjer umetnutog segmenta na novom mjestu je u odnosu na centromeru zadržan, odnosno regija 2q21 je proksimalnije centromeri u odnosu na regiju 2q31.

46,XX,ins(2)(p13q31q21)

46,XX,ins(2)(pter→p13::q21→q31::p13→q21::q31→qter).

Indirektna insercija. Dio dugoga kraka kromosoma 2 između pruga 2q21 i 2q31 umetnut je u kratki krak kromosoma 2 u regiji 2p13. Smjer umetnutog segmenta na novom mjestu je u odnosu na centromeru obrnut, odnosno regija 2q31 je proksimalnije centromeri u odnosu na regiju 2q21.

U poglavlju *Kromosomski lomovi* (10) navodi se novi pojam: kromotripsis (engl. *Chromothripsis*, cth) koji opisuje složeni obrazac naizmjenične promjene broja kopija (delecija, duplikacija, uredan) cijelom dužinom kromosoma ili u pojedinom kromosomskom segmentu. Riječ kromotripsis prvi je put navedena u radu *Stephens i sur.* a nastala je kao složenica riječi kromosom (od grčke riječi „*chroma*” – boja i „*soma*” – tijelo) te grčke riječi *thripsis* što znači drobljenje u komadiće (11). Primjenom tehnike sekvenciranja sljedeće generacije (engl. *Next-generation Sequencing* - NGS) autori su na više tipova tumora otkrili desetine do stotine preraspodjela na kromosomu u pojedinim stanicama, a posljedica su jedinstvene stanične krize. Prema autorima kromotripsis se može vidjeti u 2%-3% svih tumora a prisutan je i u ~25% stanica tumora kostiju. Kako ova složena strukturna promjena nije vidljiva na neopruganim kromosomima, a nije razlučiva na opruganim, kratica cth se u nomenklaturi rabi kod pisanja nalaza analize na mikropostorju.

U poglavlju *In situ hibridizacija* (13) dodano je dosta novih primjera, te je prema novoj nomenklaturi izmijenjeno mjesto pisanja oznake amp u kariotipu:

nuc ish amp(MYCN)[200] → nuc ish(MYCN amp)[200].

Poglavlje 14 koje je u ISCN-u 2009. imalo naziv *Otkrivanje broja kopija* (engl. *Copy Number Detection*) i sadržavalo potpoglavlja o metodi višestrukog umnažanja vezanih sonda (MLPA) te o mikropostroju (engl. *microarray*) u potpunosti je izmijenjeno, pa u novom ISCN-u 2013. sadrži samo nomenklaturu za analizu kromosoma na mikropostroju. Pri pisanju aberantnog nalaza mikropostroja daje se mogućnost navođenja čovjekove genske karte (engl. *human genome build or assembly*) na osnovi koje je temeljen nalaz rabeći oznaku hg u uglatoj zagradi nakon oznake arr bez upotrebe razmaka. Primjer:

arr[hg19] 16q12.1q21(50,843,158-60,770,795)X3

Analiza na mikropostroju (prema UCSC-u 2009., hg19 genskoj karti) pokazala je jednu duplikaciju na dugom kraku kromosoma 16 od pruge q12.1 do pruge q21. Veličina duplikacije je ~9.92 Mb.

Prilikom interpretacije nalaza u izvješću je svakako potrebno navesti platformu koja je primijenjena te koja je rezolucija i je li analiza mikropostroja rađena na cjelokupnom genomu. Pri vrlo složenim rezultatima nalaza mikropostroja moguće je, primjenjujući ISCN nomenklaturu, rezultate prikazati i u tablici.

Budući da je analiza mikropostrojem kvantitativna tehnika, ona otkriva nedostatak ili višak genetičkog materijala, no njome se ne može utvrditi priroda poremećaja kao ni balansirane promjene. Stoga su kariotipizacija i/ili FISH analiza nužne za prikazivanje vrste preraspodjele genoma. Rezultate svih ispitivanja potrebno je navesti zajedno u kariotipu. Prema nomenklaturi se nalazi dobiveni različitim tehnikama odvajaju točkom, s naputkom da se između ne stavlja nikakav razmak pri pisanju. Primjer:

46,XY,r(9)(p24.3;q34.3)inv dup(9)(p24.3p22.3).arr[hg19]9p24.3(204,367-1,046,205)x1,9p24.3(1,046,309-1,972,414)x2,9p24.3p22.3(1,972,355-14,710,392)x3

Muški kariotip s prstenastim kromosomom 9, s mjestima loma na kratkom kraku kromosoma 9 u pruzi p24.4 i na dugom kraku kromosoma 9 u pruzi q34.3 te inverznom duplikacijom dijela kratkog kraka kromosoma 9 od pruge p24.3 do pruge p22.3. Analiza mikropostroja (prema UCSC-u 2009., hg19 genskoj karti) pokazala je deleciju na kratkom kraku kromosoma 9 u regiji p24.3 veličine 841,839 pb, normalan slijed na kratkom kraku kromosoma 9 u regiji p24.3 veličine 926,106 pb, te duplikaciju na kratkom kraku kromosoma 9 od pruge p24.3 do pruge p22.3 veličine 12.73 Mb.

U izdvojenom odlomku za tehnologiju mikropostroja koja se oslanja na polimorfizam jednog nukleotida (engl. *Single Nucleotide Polymorphism* – SNP) dodano je još primjera nomenklature s opsežnim pojašnjenjima pravila pisanja nala-

za. Kako bi se odredila zigotnost kromosomske regije, mogu se primijeniti kratice h mz – homozigot i htz – heterozigot, te je navedeno nekoliko primjera.

arr 11p12(37,741,458-39,209,912)x2h mz mat

Analiza SNP mikropostroja pokazuje homozigotnost na kratkom kraku kromosoma 11 u regiji p12 koja je majčinog podrijetla.

arr 15q11.2q26.3(18,427,103-100,338,915)x2 h mz pat

Analiza SNP mikropostroja pokazuje homozigotnost cijelog dugog kraka kromosoma 15 koja je očevog podrijetla.

U odlomku pod naslovom: *Složeni rezultati mikropostroja* (engl. *Complex Array Results*) navode se primjeri pisanja nomenklature s mnogostrukim prestrukturiranjima duž čitavog genoma, u kojoj se primjenjuje oznaka cx – složeno prestrukturiranje (engl. *complex rearrangements*).

arr(1-22,X)cx

Analiza mikropostroja je pokazala brojna složena prestrukturiranja duž čitavog genoma u ženske osobe.

Prikazani su i primjeri nomenklature u kojoj se navodi oznaka cth – kromotripsis, a koji se odnosi na naizmjenične promjene broja kopija (uredan, delecija, duplikacija) cijelom dužinom kromosoma ili kromosomskog segmenta.

arr 1p36q44(1-247,249,719)cth

Analiza mikropostrojem pokazuje višestruke naizmjenične promjene (uredni segmenti, duplikacija i/ili delecija unutar regije) na kromosomu 1 od regije p36 do regije q44. Sav genetički materijal je od kromosoma 1.

arr 1p36q44(1-247,249,719)cth,9p24.3p22.3(1,972,355-14,710,392)x1,16q12.1q21(50,843,158-60,770,795)cth

Analiza mikropostrojem pokazala je višestruke naizmjenične promjene na kromosomu 1 od regije p36 do regije q44, deleciju na kratkom kraku kromosoma 9 od pruge p24.3 do pruge p22.3 veličine 12.73 Mb te višestruke naizmjenične promjene na kromosomu 16 od regije q12.1 do regije q21.

U novom izdanju ISCN-a umjesto odlomka o MLPA-u dodano je novo poglavlje *Analiza određene regije* (15) u kojem se s jednom oznakom u nomenklaturi prikazuje niz tehnika analize broja kopija ciljanih kromosomskih područja. Oznakom rsa – analiza određene regije (engl. *Region-Specific Assay*) prikazuju se sve tehnike kvantitativnog ispitivanja kao što su: analiza doze s pomoću kvantitativnog fluorescencijskog PCR-a (engl. *quantitative fluorescent polymerase chain reaction*, QF-PCR), PCR u stvarnom vremenu (engl. *real-time PCR*) i „bead-based“ višestruke tehnike (engl. *bead-based multiplex techniques*) kao i metoda višestrukog umnažanja vezanih sonda (MLPA). Oznaka rsa može se rabiti i za ciljane analize mikropostrojem koja istražuje ograničen broj

kromosomskih područja, pa se mogu primjereno navesti u nomenklaturi.

46,XX,rsa(13,18,21,X)x2

Uredni ženski kariotip i uredan broj kopija kromosoma 13, 18, 21 i X, primjenjujući analizu određenih regija.

rsa 22q13.33(50,104,313-51,304,565)x1

Aberantan broj kopija u kromosomskoj regiji 22q13.33 koji pokazuje deleciju primjenom tehnike analize određenih regija.

U slučaju prikaza rezultata MLPA tehnike također se upotrebljava oznaka rsa, ali je potrebno u zagrade navesti broj kompleta koji se uporabio, npr:

rsa 22q11.2(P250)X1

Aberantan rezultat koji pokazuje deleciju u regiji 22q11.2 primjenom kompleta MLPA P250.

rsa 22q11.2(HIRA)x1

Aberantan rezultat koji pokazuje deleciju u regiji 22q11.2 primjenom analize određene regije kojoj je ciljno mjesto HIRA lokus.

Razvojem novih tehnika molekularne citogenetike posljednjih godina, nužno je bilo uspostaviti normirani sustav označavanja za precizno i sažeto opisivanje genetičkih promjena u kariotipu otkrivenih ovim metodama, kao i uskladiti neke nove smjernice koje su se iskristalizirale tijekom vremena. U ovom radu su sažeto prikazane važne izmjene u ISCN-u 2013. Kako je ISCN glavna okosnica primjene nomenklature u citogenetici te je nužan priručnik za precizno i ujednačeno pisanje nalaza kariotipa (citogenetike i molekularne citogenetike), autori pozivaju na suradnju i žele da ih se upozori na propuste radi još boljeg sljedećeg izdanja.

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

DOPRINOSI AUTORA/DECLARATION OF AUTHORSHIP

Morožin Pohovski L. – u potpunosti sama izradila rad/*completely alone produced work*

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./*All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

LITERATURA

1. Denver Conference. A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. *Lancet*. 1960;1063-5.
2. Paris Conference. Standardization in human cytogenetics. *Cytogenetics*. 1972;11:313-62.
<http://dx.doi.org/10.1159/000130202>
3. ISCN. An international system for human cytogenetic nomenclature. *Birth Defects Orig Artic Ser*. 1978;14:313-404.
4. ISCN. An international system for human cytogenetic nomenclature – high resolution banding. *Cytogenet Cell Genet*. 1981;31:1-23.
<http://dx.doi.org/10.1159/000131620>
5. Harnden DG, Klinger HP, editors. ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. *Birth defects: Original Article Series*. New York: March of Dimes Birth Defects Foundation; 1985.
6. Mitelman F, editor. ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S Karger; 1991.
7. Mitelman F, editor. ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S Karger; 1995.
8. Shaffer LG, Tommerup N, editors. ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S Karger; 2005.
9. Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ, editors. ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S Karger; 2009.
10. Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M, editors. ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S Karger; 2013.
11. Stephens PJ, Greenman CD, Fu B, et al. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell*. 2011;144:27-40.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2010.11.055>
PMid:21215367 PMCID:PMC3065307

SUMMARY

The International System for Human Cytogenetic Nomenclature – ISCN 2013: new issue changes and amendments

Leona Morožin Pohovski

The International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) is the central reference for describing the human chromosome complement. The new edition, ISCN 2013, has recently been published, representing a thorough revision of the 2009 edition. The purpose of this article is to present an overview of the nomenclature changes in particular chapters of the ISCN 2013 issue compared to the previous ISCN 2009 issue. Guidelines and recommendations are intended for cytogeneticists to assist in the transition in using this updated nomenclature for describing the cytogenetic and molecular cytogenetic findings.

Keywords: chromosomes; cytogenetics; karyotype; chromosome aberrations