κεφάλαιο 5

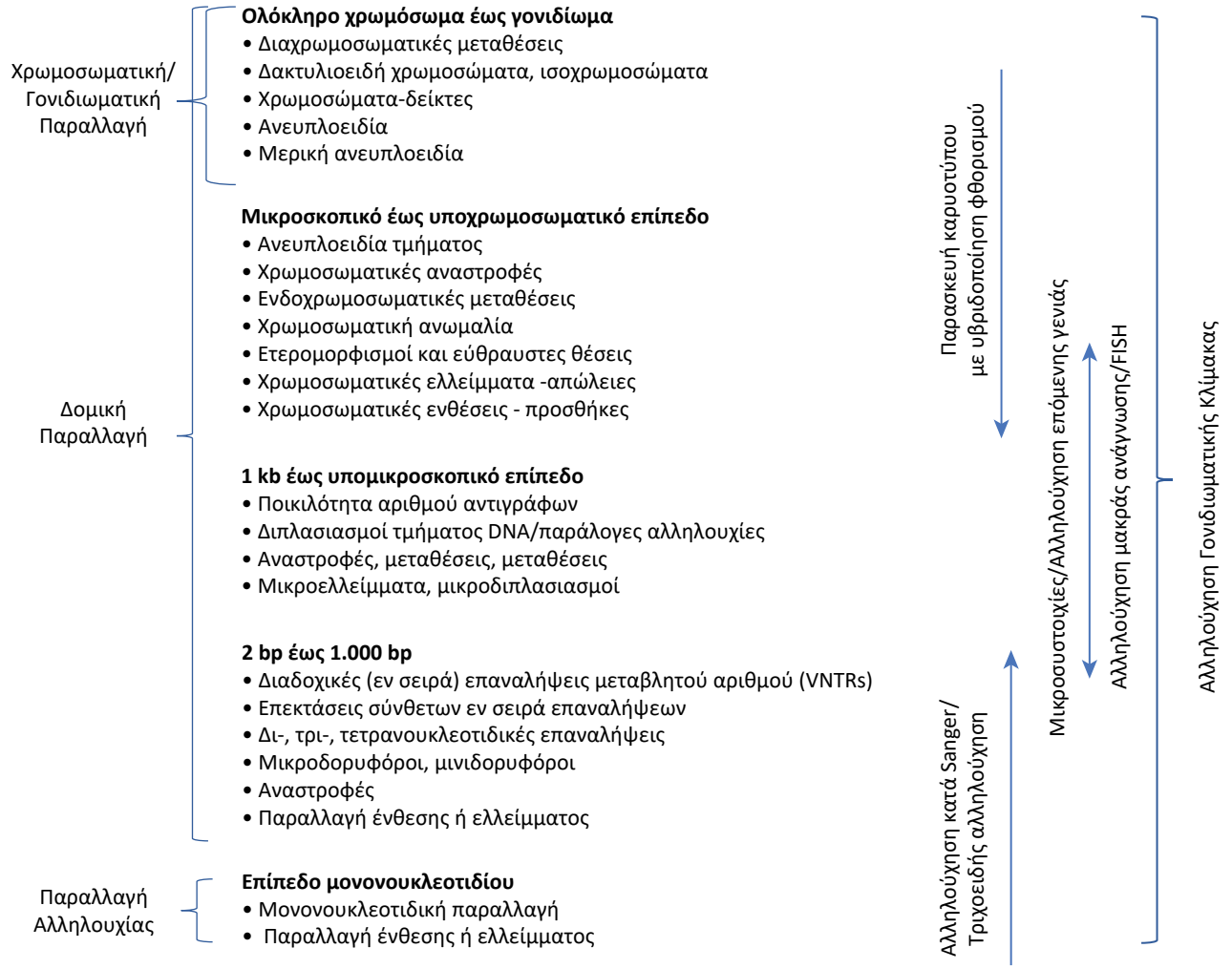
Αρχές Κλινικής Κυτταρογενετικής και Γονιδιωματικής Ανάλυσης

Dimitri J. Stavropoulos

Η κλινική **κυτταρογενετική (cytogenetics)** συνίσταται στη μελέτη της δομής των **χρωμοσωμάτων (chromosomes)** και του τρόπου κληρονόμησής τους, καθώς και στην εφαρμογή αυτών των γνώσεων στην ιατρική επιστήμη. Για περισσότερα από 50 χρόνια είναι εδραιωμένο ότι οι χρωμοσωματικές ανωμαλίες, δηλαδή οι ορατές στο μικροσκόπιο αλλαγές στον αριθμό ή τη δομή των χρωμοσωμάτων, θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν έναν αριθμό κλινικών καταστάσεων που αναφέρονται ως **χρωμοσωματικές διαταραχές (chromosome disorders)**. Οι κυτταρογενετιστές έχοντας το ενδιαφέρον τους επικεντρωμένο στο πλήρες σύνολο του **γενετικού** υλικού, ήταν οι πρώτοι που εισήγαγαν στην ιατρική γενετική την προοπτική της εξέτασης ολόκληρου του γονιδιώματος. Σήμερα, η χρωμοσωματική ανάλυση, της οποίας η ευκρίνεια και η ακρίβεια αυξάνονται διαρκώς τόσο σε κυτταρολογικό, όσο και σε γονιδιωματικό επίπεδο, αποτελεί σημαντική διαγνωστική διαδικασία σε πολυάριθμους τομείς της κλινικής ιατρικής. Οι τρέχουσες **γονιδιωματικές** αναλύσεις αξιοποιούν τις μεθόδους που θα εξεταστούν στο παρόν κεφάλαιο, συμπεριλαμβανομένων των χρωμοσωματικών **μικροσυστοιχιών (microarrays)** και της **αλληλούχησης γονιδιωματικής κλίμακας (whole genome sequencing, WGS)**. Αντιπροσωπεύουν δε, εντυπωσιακές εξελίξεις ως προς το δυναμικό και την ευκρίνεια των τεχνολογιών, οι οποίες όμως είναι ως προς τη σύλληψή τους, παρόμοιες με τις μεθόδους μικροσκοπίου που εστιάζουν στα χρωμοσώματα (Εικ. 5.1).

Οι χρωμοσωματικές διαταραχές αποτελούν μία σημαντική κατηγορία γενετικών νοσημάτων. Ευθύνονται για ένα μεγάλο ποσοστό αυτόματων αποβολών, **συγγενών (congenital)** δυσπλασιών και διανοητικής υστέρησης και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του καρκίνου. Ειδικές κυτταρογενετικές διαταραχές ευθύνονται για εκατοντάδες διαφορετικά **σύνδρομα,** τα οποία συλλογικά εμφανίζουν μεγαλύτερη συχνότητα σε σχέση με το σύνολο των μονογονιδιακών νοσημάτων. Οι κυτταρογενετικές ανωμαλίες απαντώνται σχεδόν στο 1% των ολοκληρωμένων κυήσεων, στο ~2% των κυήσεων γυναικών ηλικίας άνω των 35 ετών που υποβάλλονται σε προγεννητική διάγνωση, και στο ήμισυ όλων των αποβολών στο πρώτο τρίμηνο της κύησης.

Το φάσμα της ανάλυσης, το οποίο εκτείνεται από τις ορατές στο μικροσκόπιο αλλαγές στον αριθμό και τη δομή των χρωμοσωμάτων έως τις **ανωμαλίες (anomalies)** της δομής και της **αλληλουχίας** του γονιδιώματος που ανιχνεύονται στο επίπεδο της WGS, αφορά ουσιαστικά το πλήρες πεδίο της ιατρικής γενετικής (δείτε Εικ. 5.1). Σε αυτό το κεφάλαιο, παρουσιάζουμε τις γενικές αρχές της χρωμοσωματικής και γονιδιωματικής ανάλυσης, εστιάζοντας στις χρωμοσωματικές και τις δομικές **παραλλαγές (variants)** που αναφέρθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο. Περιορίζουμε τη συζήτησή μας στις διαταραχές που οφείλονται σε γονιδιωματική ανισορροπία, τόσο των εκατοντάδων ή χιλιάδων γονιδίων που εντοπίζονται σε μεμονωμένα χρωμοσώματα, όσο και σε μικρότερου αριθμού γονίδια που βρίσκονται εντός μίας συγκεκριμένης



ΕΙΚΟΝΑ 5.1 | Το φάσμα της διακριτικής ικανότητας στη χρωμοσωματική και γονιδιωματική ανάλυση. Τα τυπικά επίπεδα **διακριτικής ικανότητας** και οι βασικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευσή τους παρατίθενται για διάφορες τεχνολογικές προσεγγίσεις που εφαρμόζονται συστηματικά στην ανάλυση χρωμοσωμάτων και γονιδιωμάτων. Ανατρέξτε στο κείμενο για λεπτομέρειες και συγκεκριμένα παραδείγματα. (Τροποποιημένο από Trost B, Loureiro LO, Scherer SW: Discovery of genomic variation across a generation. *Hum Mol Genet* 30(2):R174-R186, 2021.)

χρωμοσωματικής περιοχής. Η εφαρμογή αυτών των αρχών σε ορισμένες από τις πιο κοινές και γνωστές χρωμοσωματικές και γονιδιωματικές διαταραχές, θα περιγραφεί παρακάτω στο Κεφάλαιο 6.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΤΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η γενική μορφολογία και οργάνωση των ανθρώπινων χρωμοσωμάτων, καθώς και η μοριακή και γονιδιωματική τους σύσταση, παρουσιάστηκαν στα Κεφάλαια 2 και 3. Η ανάλυση των χρωμοσωμάτων για κλινικούς σκοπούς μπορεί να διεξαχθεί με τη λήψη περιφερικού αίματος και τη διέγερση των Τ λεμφοκυττάρων για την παρασκευή βραχύβιων καλλιεργειών. Κατόπιν μερικών ημερών, τα διαιρούμενα κύτταρα συλλαμβάνονται στο στάδιο της **μετάφασης** με χημικές ουσίες που αναστέλλουν τον σχηματισμό της **μιτωτικής ατράκτου.** Τα χρωμοσώματα μονιμοποιούνται σε γυάλινες αντικειμενοφόρους πλάκες και βάφονται με μία από τις διάφορες τεχνικές χρώσης, ανάλογα με την εκάστοτε διαγνωστική διαδικασία. Στη συνέχεια, είναι έτοιμα για ανάλυση.

Αν και αποτελούν ιδανική λύση για μια ταχεία

κλινική ανάλυση, οι κυτταροκαλλιέργειες που παρασκευάζονται με τη λήψη περιφερικού αίματος έχουν το μειονέκτημα ότι είναι βραχύβιες (3-4 ημέρες). Μακροβιότερες καλλιέργειες, οι οποίες ενδείκνυνται για μόνιμη αποθήκευση ή πρόσθετες μελέτες μπορούν να προέλθουν από διάφορους άλλους ιστούς. Η βιοψία δέρματος, μία μικρή χειρουργική επέμβαση, είναι δυνατόν να παρέχει δείγματα ιστού, τα οποία σε καλλιέργεια παράγουν **ινοβλάστες** που αξιοποιούνται σε μία ποικιλία βιοχημικών και μοριακών μελετών, καθώς και στην ανάλυση των χρωμοσωμάτων και του γονιδιώματος. Τα λευκά αιμοσφαίρια μπορούν επίσης να μετασχηματιστούν σε καλλιέργεια για τον σχηματισμό **λεμφοβλαστοειδών (lymphoblastoid)** κυτταρικών σειρών που είναι δυνητικά αθάνατες. Ο μυελός των οστών προσφέρει το πλεονέκτημα της υψηλής περιεκτικότητας σε διαιρούμενα κύτταρα, έτσι ώστε να απαιτείται ελάχιστη ή και καθόλου καλλιέργεια. Ωστόσο, η λήψη του μπορεί να επιτευχθεί μόνο με τη σχετικά επεμβατική διαδικασία της βιοψίας του μυελού των οστών. Η κύρια χρήση του έγκειται στη διάγνωση όταν υπάρχει υποψία αιματολογικών κακοηθειών. Τα **εμβρυϊκά κύτταρα (fetal cells)** που προέρχονται από αμνιακό υγρό (αμνιοκύτταρα) ή λαμβάνονται με βιοψία χοριακών λαχνών μπορούν ομοίως να καλλιεργηθούν επιτυχώς για κυτταρογενετική, γονιδιωματική, βιοχημική ή μοριακή ανάλυση. Τα κύτταρα των χοριακών λαχνών είναι επίσης δυνατό να αναλυθούν απευθείας μετά τη βιοψία, χωρίς την ανάγκη καλλιέργειας. Είναι αξιοσημείωτο ότι μικρές ποσότητες ελεύθερου εξωκυτταρικού εμβρυϊκού DNA ανιχνεύονται στο μητρικό πλάσμα και μπορούν να εξεταστούν με WGS (δείτε το Κεφάλαιο 18 για περαιτέρω συζήτηση).

Η μοριακή ανάλυση του γονιδιώματος, συμπεριλαμβανομένης της WGS, μπορεί να πραγματοποιηθεί σε οποιοδήποτε κατάλληλο κλινικό υλικό υπό την προϋπόθεση ότι απομονώνεται DNA καλής ποιότητας. Για το σκοπό αυτό, τα κύτταρα δεν είναι απαραίτητο να διαιρούνται και επομένως, είναι δυνατή η μελέτη DNA από δείγματα ιστών και όγκων, καθώς και από το περιφερικό αίμα. Η επιλογή της καταλληλότερης προσέγγισης για έναν συγκεκριμένο διαγνωστικό ή ερευνητικό σκοπό αποτελεί έναν ταχέως εξελισσόμενο τομέα, καθώς αυξάνεται η διακριτική ικανότητα, η ευαισθησία και η ευκολία της ανάλυσης των χρωμοσωμάτων και του γονιδιώματος (δείτε το Παράρτημα 5.1).

Ταυτοποίηση Χρωμοσωμάτων

Τα χρωμοσώματα μπορούν να ταυτοποιηθούν κυτταρολογικά βάσει των χαρακτηριστικών προτύπων ζώνωσης μετά την εφαρμογή ειδικών τεχνικών χρώσης. Η πιο διαδεδομένη από αυτές, η χρώση Giemsa (**ζώνωση G, G-banding**), αναπτύχθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1970 και αποτέλεσε το πρώτο ευρέως χρησιμοποιούμενο εργαλείο ανάλυσης ολόκληρου του γονιδιώματος στο πεδίο της έρευνας και της κλινικής διάγνωσης. Η εν λόγω μέθοδος συνεχίζει να εφαρμόζεται στο πλαίσιο κλινικών διαγνωστικών εξετάσεων ακόμη και σήμερα, συνιστώντας το βασικό πρότυπο για την ανίχνευση και τον χαρακτηρισμό δομικών και αριθμητικών γονιδιωματικών ανωμαλιών, τόσο στην περίπτωση εγγενών (μεταγεννητικών ή προγεννητικών) όσο και επίκτητων (καρκινικών) διαταραχών.

Η μέθοδος της ζώνωσης G, καθώς και άλλες τεχνικές χρώσης, χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση των χρωμοσωμάτων και των παραλλαγών ή ανωμαλιών τους σύμφωνα με ένα διεθνώς αποδεκτό σύστημα κατάταξης των χρωμοσωμάτων. Η Εικ. 5.2 παρουσιάζει το ιδεόγραμμα του προτύπου ζωνών ενός συνόλου φυσιολογικών μεταφασικών χρωμοσωμάτων του ανθρώπου, το οποίο απεικονίζει το εναλλασσόμενο πρότυπο φωτεινών και σκοτεινών ζωνών, στο οποίο βασίζεται η ταυτοποίηση των χρωμοσωμάτων. Το πρότυπο των ζωνών ενός χρωμοσώματος είναι αριθμημένο σε κάθε βραχίονα από το **κεντρομερές** έως το **τελομερές**, όπως φαίνεται λεπτομερώς στην Εικ. 5.3 για έναν αριθμό χρωμοσωμάτων. Έτσι, η ταυτότητα κάθε συγκεκριμένης ζώνης (και, συνεπώς, οι αλληλουχίες DNA και τα γονίδια εντός αυτής) μπορεί να περιγραφεί με ακρίβεια και σαφήνεια με την αξιοποίηση αυτού του δομημένου κατά τόπους και ιεραρχικού συστήματος αρίθμησης.

ΠΛΑΙΣΙΟ 5.1

Κλινικές Ενδείξεις για Χρωμοσωματική και Γονιδιωματική Ανάλυση

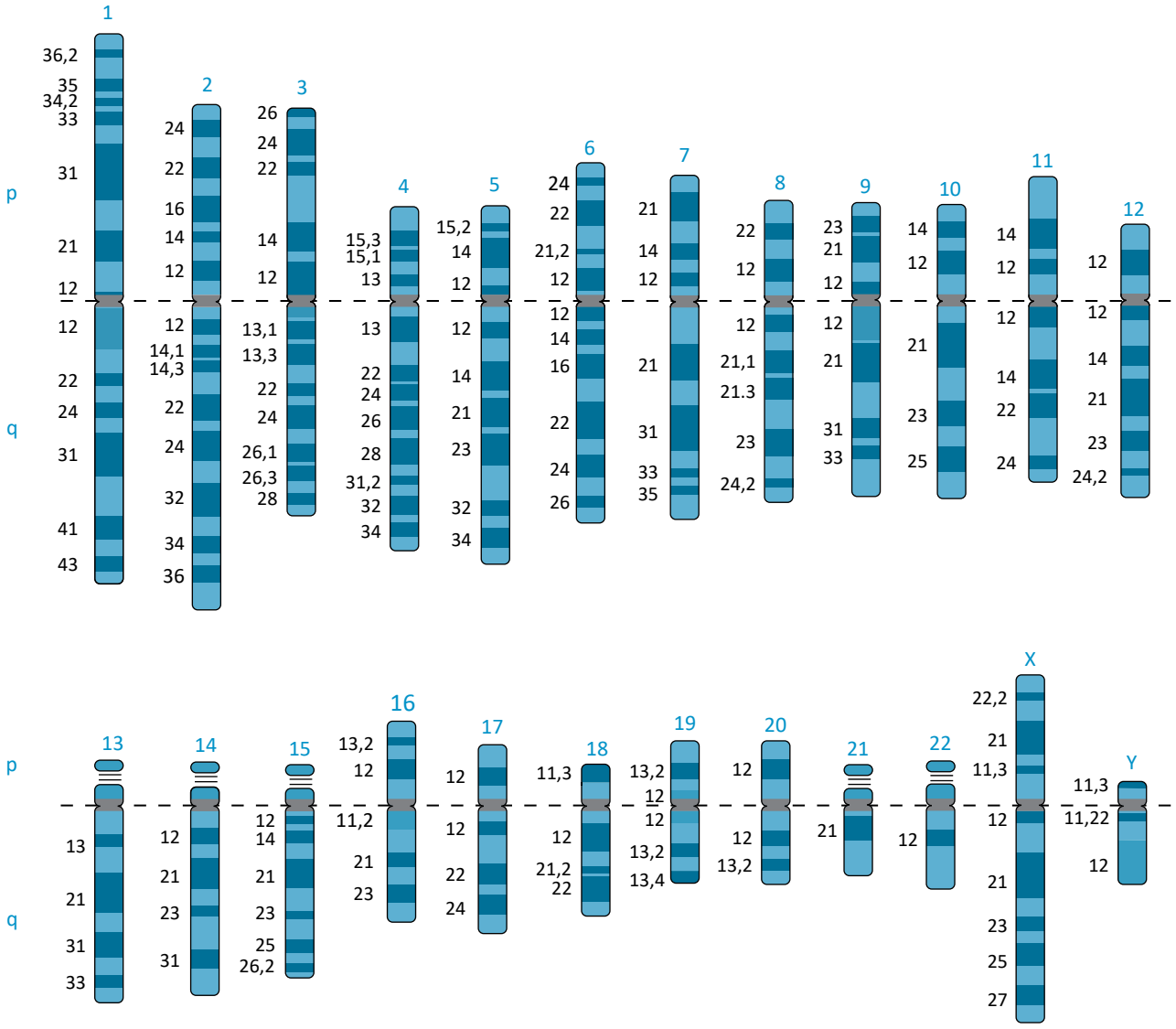
Η χρωμοσωματική ανάλυση ενδείκνυται ως διαγνωστική μέθοδος ρουτίνας για έναν αριθμό ειδικών κλινικών καταστάσεων που συναντώνται στην ιατρική, καθώς και ορισμένων γενικών κλινικών ευρημάτων, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται οι εξής:

- ***Προβλήματα της πρώιμης αύξησης και ανάπτυξης.*** Η ελλειμματική ανάπτυξη, η αναπτυξιακή καθυστέρηση, το δυσμορφικό προσωπείο, οι πολλαπλές δυσπλασίες, το μικρό ανάστημα, τα αμφίβολα έξω γεννητικά όργανα και η νοητική αναπηρία αποτελούν συχνά ευρήματα σε παιδιά με χρωμοσωματικές ανωμαλίες. Όταν δεν τεκμαίρεται σαφής διάγνωση από την χρωμοσωματική παρατήρηση, απαιτείται η διενέργεια γονιδιωματικής ανάλυσης για πιθανή ανίχνευση διαγνωστικών παραλλαγών του αριθμού αντιγράφων ή/και της αλληλουχίας καθ' όλο το μήκος του γονιδιώματος σε ασθενείς που παρουσιάζουν οποιονδήποτε συνδυασμό τέτοιων προβλημάτων (δείτε το Κεφάλαιο 11).
- ***Θνησιγένεια και νεογνικός θάνατος.*** Η συχνότητα εμφάνισης χρωμοσωματικών ανωμαλιών είναι πολύ υψηλότερη μεταξύ των θνησιγενών γεννήσεων (έως και ~10%) απ' ό,τι μεταξύ των γεννήσεων ζωντανών νεογνών (~0,7%), ενώ είναι επίσης αυξημένη μεταξύ των βρεφών που αποβιώνουν κατά τη νεογνική ηλικία (~10%). Για τις ανερμήνευτες θνησιγενείς γεννήσεις και τους νεογνικούς θανάτους, η ανάλυση του αριθμού γονιδιακών αντιγράφων και της αλληλουχίας σε επίπεδο γονιδιώματος ενδέχεται να αποκαλύψει μία πιθανή γενετική αιτιολογία. Τέτοιες αναλύσεις μπορεί να παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για την προγεννητική ή προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (δείτε το Κεφάλαιο 18) κατά τις μελλοντικές κυήσεις.
- ***Προβλήματα γονιμότητας***. Η ανάλυση χρωμοσωμάτων βάσει του **καρυοτύπου (karyotype)** με ζώνωση G ενδείκνυνται σε γυναίκες με αμηνόρροια και σε ζευγάρια με ιστορικό υπογονιμότητας ή επαναλαμβανόμενων αποβολών. Στις περιπτώσεις υπογονιμότητας ή εμφάνισης δύο, τουλάχιστον, αποβολών, διαπιστώνεται χρωμοσωματική ανωμαλία στον ένα από τους δύο γονείς σε ποσοστό 3-6%.
- ***Δομικός χαρακτηρισμός των γονιδιωματικών ανισορροπιών και μελέτες οικογενειακής παρακολούθησης.*** Ο πλήρης δομικός χαρακτηρισμός των **παραλλαγών του αριθμού γονιδιακών αντιγράφων (copy number variations, CNV)** που ταυτοποιούνται μέσω της αντίστοιχης ανάλυσης ολόκληρου του γονιδιώματος απαιτεί ίσως πρόσθετες μελέτες, όπως η εξέταση του καρυοτύπου με ζώνωση G ή η **υβριδοποίηση φθορισμού *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH)** κατά τη μετάφαση. Μία γνωστή μη ισοζυγισμένη χρωμοσωματική ανωμαλία μπορεί να είναι αποτέλεσμα μίας ισοζυγισμένης **αναδιάταξης (rearrangement)** στο γονιδίωμα του ενός γονέα, η οποία θα επιδρά σε μελλοντικές κυήσεις και τυχόν προγεννητικές διαγνώσεις, καθώς και ενδεχομένως σε άλλα μέλη της οικογένειας του γονέα-**φορέα (carrier)**.
- ***Νεοπλασία.*** Σχεδόν όλες οι περιπτώσεις καρκίνου συσχετίζονται με μία ή περισσότερες χρωμοσωματικές ανωμαλίες (δείτε το Κεφάλαιο 16). Η αξιολόγηση των χρωμοσωμάτων και του γονιδιώματος στον ίδιο τον όγκο ή στον μυελό των οστών (σε περίπτωση κάποιας κακοήθους αιματολογικής νεοπλασίας) μπορεί να παρέχει διαγνωστικές ή προγνωστικές πληροφορίες
- ***Κύηση.*** Διάφοροι προγεννητικοί παράγοντες **κινδύνου (risk)**, όπως προχωρημένη ηλικία της μητέρας, βιοχημικοί δείκτες και υπερηχογραφικά ευρήματα, σχετίζονται με χρωμοσωματικές ανωμαλίες (δείτε το Κεφάλαιο 18). Σε περίπτωση τέτοιων κυήσεων, κρίνεται απαραίτητη η γονιδιωματικής κλίμακας ανάλυση του αριθμού γονιδιακών αντιγράφων και αλληλουχιών ως μέρος των προγεννητικών εξετάσεων ρουτίνας. Ο **μη επεμβατικός προγεννητικός έλεγχος (noninvasive prenatal screening)** με τη χρήση της αλληλούχησης γονιδιωματικής κλίμακας **ελεύθερου εξωκυττάριου DNA (cell-free DNA)** που λαμβάνεται από το μητρικό αίμα διατίθεται επίσης ως επιλογή για την ανίχνευση των πιο κοινών χρωμοσωματικών διαταραχών.

Τα χρωμοσώματα του ανθρώπου ταξινομούνται κατά κανόνα σε τρεις τύπους, οι οποίοι διακρίνονται εύκολα βάσει της θέσης του κεντρομερούς, της **πρωτογενούς περίσφιξης (primary constriction)** που καθίσταται ορατή κατά το στάδιο της μετάφασης (δείτε Εικ. 5.2). Τα **μετακεντρικά** χρωμοσώματα φέρουν ένα κεντρικά τοποθετημένο κεντρομερές και περίπου

ισομήκεις βραχίονες, τα **υπομετακεντρικά** χρωμοσώματα φέρουν ένα έκκεντρα τοποθετημένο κεντρομερές, δημιουργώντας βραχίονες σαφώς διαφορετικού μήκους, και τα **ακροκεντρικά** χρωμοσώματα που φέρουν το κεντρομερές κοντά στο ένα άκρο τους. Ένας πιθανός τέταρτος τύπος χρωμοσώματος, το **τελοκεντρικό**, με ένα κεντρομερές τοποθετημένο στο ένα άκρο και μόνο έναν βραχίονα, δεν απαντάται στον φυσιολογικό καρυότυπο του ανθρώπου, αλλά παρατηρείται περιστασιακά σε χρωμοσωματικές αναδιατάξεις.

Τα ακροκεντρικά χρωμοσώματα του ανθρώπου (13, 14, 15, 21 και 22) διαθέτουν μικρές, χαρακτηριστικές μάζες **χρωματίνης**, γνωστές ως **δορυφόροι**, οι οποίες συνδέονται με τους μικρούς βραχίονες μέσω λεπτών στελεχών (που ονομάζονται δευτερεύουσες περισφίξεις). Τα στελέχη αυτών των πέντε ζευγών χρωμοσωμάτων περιέχουν εκατοντάδες αντίγραφα γονιδίων

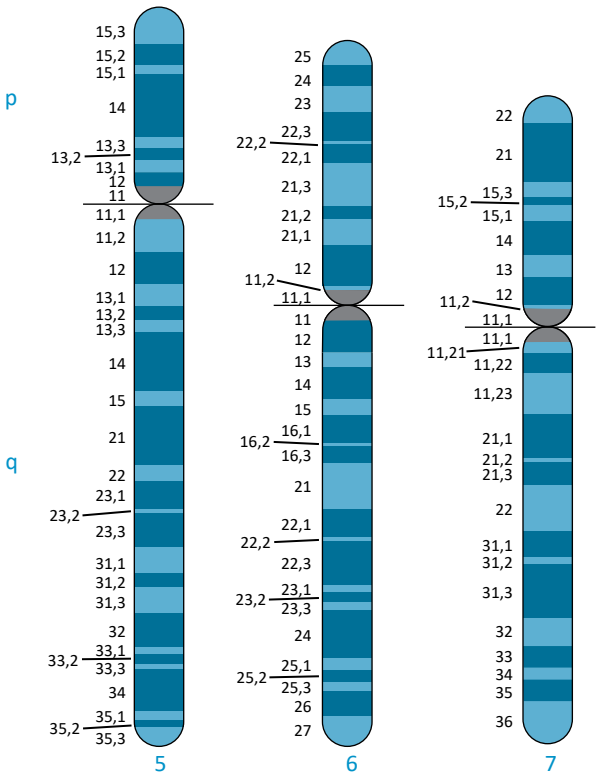


ΕΙΚΟΝΑ 5.2 | Ιδεόγραμμα που παρουσιάζει τα πρότυπα ζώνωσης G των μεταφασικών χρωμοσωμάτων του ανθρώπου, με περίπου 400 ζώνες ανά απλοειδή καρυότυπο. Όπως απεικονίζεται, τα χρωμοσώματα αναπαρίστανται κατά κανόνα με τις αδελφές χρωματίδες τόσο στενά διατεταγμένες, ώστε να μην αναγνωρίζονται ως διακριτές οντότητες. Τα κεντρομερή υποδεικνύονται από την πρωτογενή περίσφιξη και τις στενές *σκούρες γκρίζες* περιοχές που διαχωρίζουν τους βραχίονες p και q. Για λόγους ευκολίας και σαφήνειας, αριθμούνται μόνο οι σκοτεινές ζώνες G. Για παραδείγματα του πλήρους συστήματος αρίθμησης, δείτε την Εικ. 5.3. (Αναπαραγωγή από Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M, editors: ISCN 2013: an international system for human cytogenetic nomenclature, Basel, 2013, Karger.)

που κωδικοποιούν ριβοσωματικό **RNA** (το κύριο συστατικό των ριβοσωμάτων, δείτε το Κεφάλαιο 3), καθώς και μία πληθώρα επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών.

Ένας τυπικός καρυότυπος που έχει υποβληθεί σε ζώνωση G με ένα επίπεδο διακριτικής ικανότητας 400 έως 550 ζωνών, όπως παρατηρείται σε ένα μέσο μεταφασικό παρασκεύασμα, επιτρέπει την ανίχνευση ελλειμμάτων και διπλασιασμών μεγαλύτερων των περίπου 5 έως και 10 Mb (δείτε Εικ. 5.1). Ωστόσο, η ευαισθησία της ζώνωσης G σε αυτό το επίπεδο ευκρίνειας μπορεί να είναι χαμηλότερη σε περιοχές του γονιδιώματος στις οποίες τα πρότυπα των ζωνών είναι λιγότερο καθορισμένα. Η ζώνωση υψηλής ευκρίνειας (που ονομάζεται επίσης ζώνωση **προμεταφάσης**) μπορεί να αποκαλύψει 850 ή και περισσότερες ζώνες ανά **απλοειδή** σειρά, μέσω της χρώσης χρωμοσωμάτων που έχουν ληφθεί σε πρώιμο στάδιο της **μίτωσης** (**πρόφαση -prophase-** ή προμεταφάση), όταν αυτά βρίσκονται ακόμη σε μία σχετικά μη συμπυκνωμένη κατάσταση (δείτε το Κεφάλαιο 2). Η ανάπτυξη της υψηλής ευκρίνειας χρωμοσωματικής ανάλυσης στις αρχές της δεκαετίας του 1980 επέτρεψε την ανακάλυψη ενός αριθμού νέων συνδρόμων **μικροελλείμματος** ή μικροδιπλασιασμού, τα οποία οφείλονται σε μικρότερες γονιδιωματικές αναδιατάξεις, μεγέθους 2 έως 3 Mb (δείτε Εικ. 5.1). Ωστόσο, ο χρονοβόρος και τεχνικά δύσκολος χαρακτήρας της παραπάνω κυτταρογενετικής μεθόδου αποκλείει τη συστηματική χρήση της για την ανάλυση γονιδιωματικής κλίμακας.

Εκτός από τις αλλαγές στο πρότυπο των ζωνών, τα χρωματινικά διαστήματα όπου δεν παρατηρείται χρώση, γνωστά ως **εύθραυστες θέσεις (fragile sites)**, αποτελούν κληρονομικές παραλλαγές που μπορούν να ανιχνευθούν σε συγκεκριμένες χρωμοσωματικές περιοχές, οι οποίες είναι επιρρεπείς σε τοπική γονιδιωματική αστάθεια λόγω καταπόνησης κατά την αντιγραφή του DNA. Έως σήμερα, έχουν καταγραφεί περισσότερες από 100 κοινές και σπάνιες (με πληθυσμιακή συχνότητα <5%) εύθραυστες θέσεις. Οι κοινές εύθραυστες θέσεις εκτιμάται ότι οδηγούν στη γονιδιωματική αστάθεια των καρκινικών κυττάρων, ενώ ένα μικρό ποσοστό σπάνιων εύθραυστων θέσεων σχετίζεται με συγκεκριμένες κλινικές διαταραχές. Για παράδειγμα, η σπάνια εύθραυστη θέση που βρίσκεται στην περιοχή Xq27.3 οφείλεται σε επέκταση των επαναλήψεων CGG και παρατηρείται σε ασθενείς με το σύνδρομο του εύθραυστου χρωμοσώματος X (**Περίπτωση 17**).



ΕΙΚΟΝΑ 5.3 | Παραδείγματα του προτύπου ζώνωσης G για τα χρωμοσώματα 5, 6 και 7 στο στάδιο συμπύκνωσης 550 ζωνών. Οι αριθμοί των ζωνών επιτρέπουν την ακριβή ταυτοποίηση κάθε φωτεινής και σκοτεινής ζώνης G. Η ονοματολογία των ζωνών υποδεικνύει τον αριθμό του χρωμοσώματος (1-22,X,Y), τον μικρό (p) ή τον μεγάλο βραχίονα (q), την περιοχή, τη ζώνη και την υπο-ζώνη. Για παράδειγμα, το χρωμόσωμα 5p15.2 αναφέρεται ως «5-p-ένα-πέντε-κόμμα-2». (Αναπαραγωγή από Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M, editors: ISCN 2013: an international system for human cytogenetic nomenclature, Basel, 2013, Karger.)

Υβριδοποίηση Φθορισμού *In Situ* (FISH)

Στις αρχές της δεκαετίας του 1990, η στοχευμένη ζώνωση υψηλής ευκρίνειας αντικαταστάθηκε σε μεγάλο βαθμό από την τεχνική **FISH**, μία