

О. О. Степанов, Т. Е. Зерова-Любимова, С. В. Денисенко

# АНАЛІЗ ХРОМОСОМНОЇ ПАТОЛОГІЇ У ПЛОДА ЗА ДОПОМОГОЮ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЇ ГІБРИДИЗАЦІЇ *IN SITU* НА ІНТЕРФАЗНИХ ЯДРАХ — ОБМЕЖЕННЯ ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ

Клініка проблем планування сім'ї, Київ, Україна

УДК 575.191:618.33-056.715/.717-07

А. А. Степанов, Т. Э. Зерова-Любимова, С. В. Денисенко

## АНАЛИЗ ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИИ У ПЛОДА С ПОМОЩЬЮ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ *IN SITU* НА ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДРАХ — ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Клиника проблем планирования семьи, Киев, Украина

Проанализирована структура хромосомной патологии у плода по результатам цитогенетического анализа клеток биоптата ворсин хориона, амниотической жидкости, проведено сравнение результатов выявления хромосомной патологии стандартными цитогенетическими и молекулярно-цитогенетическими методами, дана оценка информативности флюорисцентной гибридизации *in situ* на интерфазных ядрах.

**Ключевые слова:** пренатальная диагностика, хромосомная патология, флюоресцентная гибридизация *in situ*, интерфазные ядра.

UDC 575.191:618.33-056.715/.717-07

O. O. Stepanov, T. E. Zerova-Lyubimova, S. V. Denysenko

## PRENATAL DIAGNOSIS OF CHROMOSOME PATHOLOGY ON INTERPHASE CELLS WITH FLUORESCENCE HYBRIDIZATION *IN SITU* — METHOD'S LIMITATION

Clinic of Family Planning Problems, Kyiv, Ukraine

**Introduction.** Molecular-cytogenetic and molecular methods are widely used in prenatal diagnosis for rapid detection of genomic mutations (trisomy 13, 18, 21). Aneuploidy screening is important for 35 year-old women. It is well known that the risk to born a child with chromosome pathology is higher among older mothers. The application of rapid aneuploidy testing by molecular and molecular-genetic methods as a stand-alone approach in prenatal diagnosis is greatly debated. The level of false-positive and false-negative results is 13.2–30%.

**Objectives.** To assess the clinical utility of molecular-cytogenetic methods as an express method in detecting chromosomal pathology in fetuses.

**The aim** of this study is to objectively evaluate FISH in prenatal diagnosis of chromosome pathology as stand-alone approach to women older than 35 years old.

**Methods.** Classical cytogenetic and molecular-cytogenetic methods (FISH) on metaphases and interphase cells.

**Results and conclusions.** We retrospectively reviewed the results of cytogenetic conventional investigation of 577 fetuses. CVS was performed specifically for advanced maternal age (35 years old). 30 abnormal karyotypes were found. Among them there were 21 fetuses with aneuploidy, 7 — with structural rearrangement and 2 fetuses — with marker chromosome.

Additional FISH investigation was used for 12 cases: in mosaic variants — 9 cases, to identify marker chromosome — 2 cases, to detect cryptic microdeletion — 1 case.

According to our results, FISH is highly informative test for identification of chromosomal mutation (marker chromosome, microdeletion, chromosomal rearrangements) and for identification of percent of mosaic clones.

However, it should be recognized that the rapid test for aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X and Y by FISH provides only a limited amount of information about the fetus's karyotype. Retrospective analysis demonstrated that the fast FISH fails to detect 30 to 45% of the fetal chromosomal anomalies. The risk to receive false-negative results is near 48.4%, as our results demonstrate.

**Key words:** prenatal diagnostics, chromosome pathology, FISH, interphase cells.

### Вступ

Наявність хромосомної патології у людини на пренатальному рівні встановлюється за допомогою цитогенетичних, молекулярно-цитогенетичних і молекулярних методів. У біль-

шості випадків аналіз проводять за допомогою стандартного цитогенетичного дослідження у першому-другому триместрі вагітності біоптату ворсин хоріона та клітин амніотичної рідини. Молекулярно-цитогенетичні та молекулярні

методи пропонують застосовувати як експрес-аналіз для виявлення найбільш поширених геномних мутацій у плода (трисомія 13, 18, 21) [2–4]. Обґрунтуванням для проведення експрес-діагностики подружнім парам старшої вікової катего-



рії є встановлений зв'язок між віком матері та ризиком народження дитини з хромосомною патологією. Проте доцільність широкого впровадження експрес-методу дискутується. Випадки хибнопозитивних і хибнонегативних результатів становлять від 13,2 до 30 % [1; 2].

**Мета** нашого дослідження — оцінити ефективність застосування молекулярно-цитогенетичних методів як експрес-аналізу для виявлення й ідентифікації хромосомної патології у плодів жінок старшої вікової категорії.

### Матеріали та методи дослідження

Ретроспективний аналіз результатів цитогенетичного дослідження каріотипу 577 плодів був проведений для визначення відсотка виявлення генномних і хромосомних мутацій у плодів вагітних жінок старшої вікової категорії. Середній вік жінок, яким проводили інвазивну пренатальну діагности-

ку, становив 37,8 року. Згідно з вимогами Комітету з біоетики НМАПО ім. П. Л. Шупика, була отримана інформаційна згода у пацієнтів на проведення аналізу.

Для цитогенетичного аналізу використовували матеріал біоптату ворсин хоріона й амніотичну рідину. Алгоритм проведення аналізу представлений на рис. 1. Препарати з клітин біоптату ворсин хоріона готували за загальноприйнятими методиками із власною модифікацією. У кожному випадку отримували препарати після безпосередньої фіксації клітин одразу після біопсії ворсин хоріона і через 24 год культивування клітин у культуральному середовищі Amnio Max II. Усього для кожного випадку аналізували по 30–40 метафаз.

Клітини амніотичної рідини культивували за загальноприйнятим методом [8]. Аналізували 15–20 клітин від не менше ніж двох незалежних пер-

винних культур (двох флаконів).

Препарати клітин амніотичної рідини та біоптату ворсин хоріона забарвлювали GTG-методом. Допоміжні методи забарвлення (QFQ та CBG) застосовували за необхідності для уточнення розміру гетерохроматинових блоків.

Флюоресцентну гібридизацію *in situ* (FISH) проводили за протоколом, рекомендованим виробником ДНК-зондів. Залежно від показань застосовували ДНК-зонди на центромерні ділянки хромосом (CEP), локус-специфічні (LSI), багатокольорову FISH — multi-FISH (Vysis, Abbott Molecular Inc, США). При виявленні мозаїцизму для уточнення співвідношення клонів клітин із хромосомною патологією аналізували по 200 інтерфазних ядер без накладань.

### Результати дослідження та їх обговорення

Стандартний цитогенетичний аналіз біоптату ворсин хо-

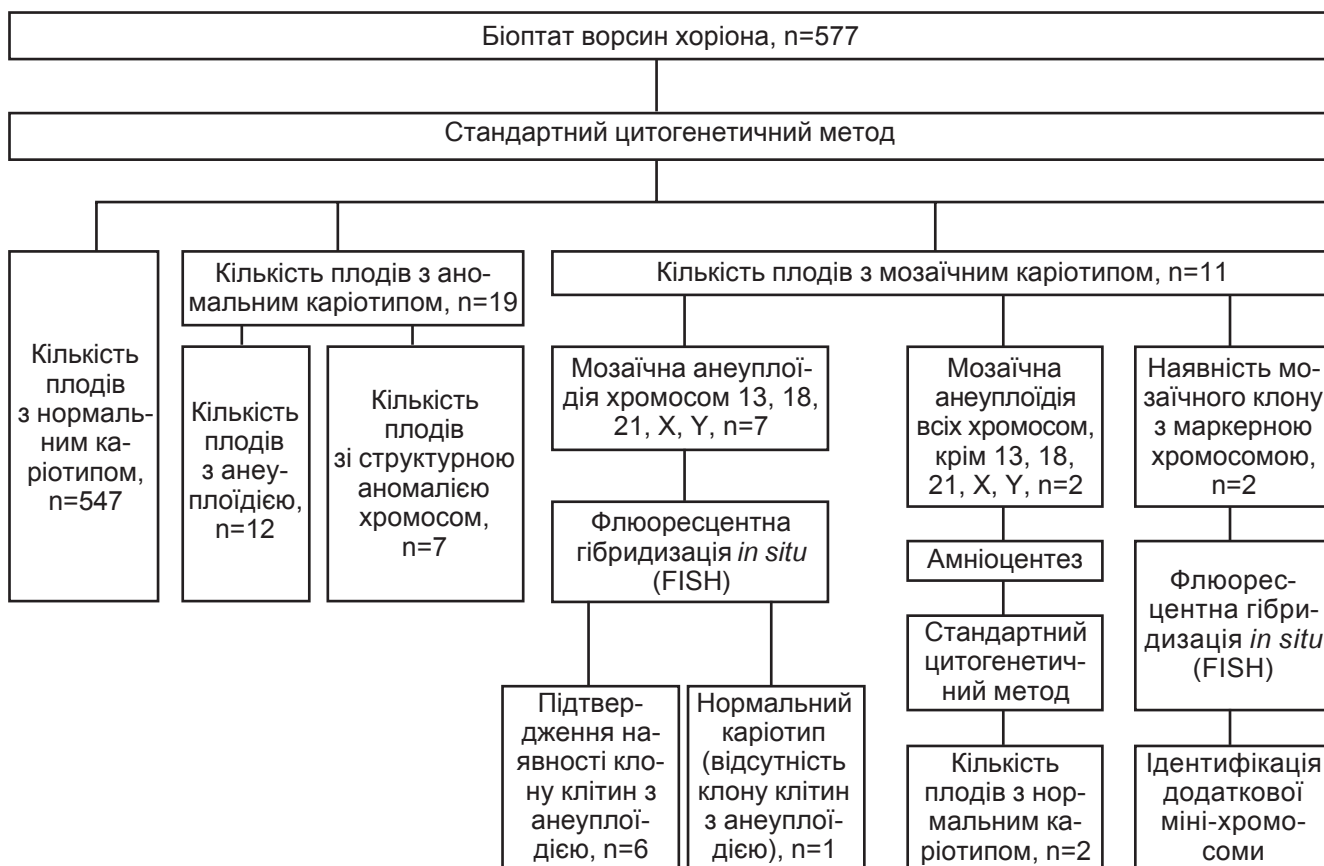


Рис. 1. Алгоритм проведення дослідження



ріона 577 плодів виявив хромосомну патологію в 30 випадках, що становило 5,2 %. Переважали геномні мутації — анеуплоїдії автосом і гоносом у повній та мозаїчній формах (21 випадок, що становить 70 % усієї виявленої патології). Хромосомні мутації (транслокації, делеції) були виявлені в 7 (23,3 %) випадках. Додаткові маркерні хромосоми траплялися з частотою 2 (6,7 %) випадки.

Серед геномних мутацій переважали анеуплоїдії гоносом (повна та мозаїчна форми, 10 випадків) і трисомія хромосоми 21 (повна та мозаїчна форми, 4 випадки). Інші геномні мутації були визначені як тетраплоїдія, трисомія хромосоми 8, трисомія хромосоми 2 (мозаїчна форма) і трисомія хромосоми 3 (мозаїчна форма).

Усі випадки мозаїчної форми анеуплоїдії хромосом 13, 21, X, Y були проаналізовані додатково молекулярно-цитогенетичним методом FISH (див. рис. 1). Залежно від результату цитогенетичного аналізу використовували різні ДНК-зонди. При виявленні мозаїцизму гоносом були задіяні ДНК-зонди на центромерні ділянки хромосоми X та Y (СЕРХ, СЕРУ). Аналіз мозаїцизму трисомії хромосом 13 та 21 на інтерфазних ядрах проводили з використанням ДНК-зондів на унікальні послідовності хромосом: для хромосоми 13 ділянка 13q14.2 і для хромосоми 21 — 21q22.13 (для кожної ділянки по кілька маркерів).

Результати молекулярно-цитогенетичного дослідження подано у табл. 1. Наявність мозаїчного клону було підтверджено в чотирьох з п'яти випадків. За допомогою FISH у випадках 1, 2, 6, 7 було підтверджено наявність клону клітин з каріотипом, відмінним від нормального, а також визначено співвідношення нормальних й анеуплоїдних клітин. Подальше медико-генетичне консуль-

тування родини базувалося на результатах молекулярно-цитогенетичного аналізу. У випадку 5 додаткове молекулярно-цитогенетичне дослідження інтерфазних ядер, отриманих з матеріалу біоптату ворсин хоріона, не підтвердило наявності клону клітин з каріотипом 45,X, який був виявлений стандартним цитогенетичним методом. Подальший алгоритм дій у даному випадку — цитогенетичний і молекулярно-цитогенетичний аналіз клітин амніотичної рідини, який показав нормальний жіночий каріотип (див. табл. 1).

Окрім найбільш поширених анеуплоїдій та їх мозаїчних варіантів (анеуплоїдії хромосом 13, 18, 21, X та Y), було виявлено мозаїчну форму трисомії хромосоми 2 (випадок 3) і мозаїчну форму трисомії хромосоми 3 (випадок 4; див. табл. 1). Обидва випадки були досліджені двома етапами для визначення співвідношення клонів клітин (див. рис. 1). Згідно з алгоритмом, обидва випадки були досліджені стандартним цитогенетичним методом на клітинах біоптату ворсин хоріона (прямі препарати та препарати, отримані після культивування). Другий етап включав проведення амніоцентезу навколоплідної рідини на 18-му тижні вагітності й аналіз клітин, отриманих після культивування амніотичної рідини. Цитогенетичний аналіз культури клітин з амніотичної рідини не виявив мозаїцизму — каріотип плода у випадку 3 — 46,XX, у випадку 4 — 46,XY.

Серед хромосомних структурних аномалій, які були виявлені стандартним цитогенетичним методом, найбільш поширеними виявилися делеції та Робертсонівські транслокації. Молекулярно-цитогенетичне дослідження було проведене при визначенні інтерстиціальної делеції довгого плеча хромосоми 22.

Наявність ультразвукових маркерів при нормальному ка-

ріотипі визначила подальший перебіг лабораторного дослідження. Так, проведення ультразвукового обстеження на 23-му тижні вагітності зафіксувало комбіновану ваду серця у плода (дефект міжшлуночкової перегородки, гіпоплазія правого шлуночка, атрезія трикуспідального клапана, гіпоплазія стовбура легеневої артерії). Стандартний цитогенетичний аналіз клітин амніотичної рідини показав нормальний каріотип (46,XX). Оскільки відомо, що вади серця пов'язані з мікроделецією хромосоми 22, було вирішено провести додаткове молекулярно-цитогенетичне дослідження із застосуванням локус-специфічного ДНК-зонда на хромосому 22. Аналіз хромосом за допомогою FISH із застосуванням ДНК-зонда LSI DiGeorge locus Spectrum Orange/LSI ARSA Spectrum Green виявив делецію ділянки 11.2 довгого плеча хромосоми 22 (22q11.2) в усіх проаналізованих метафазах та інтерфазних ядрах. Подальше медико-генетичне консультування родини базувалося на результатах молекулярно-цитогенетичного аналізу.

Ідентифікація додаткових маркерних хромосом також потребувала додаткового молекулярно-цитогенетичного аналізу. У випадку 10 були використані центромерні ДНК-зонди на хромосоми X і Y; додаткова міні-хромосома походила від хромосоми X (див. табл. 1) [3]. У випадку 11 застосували багатокольорову FISH, під час якої кожна пара хромосом забарвлюється в індивідуальний колір. Маркерна хромосома була ідентифікована як дериват хромосоми 12 (див. табл. 1) [4].

Отже, молекулярно-цитогенетичне дослідження проводилось у разі виявлення мозаїцизму автосом або гоносом (9 випадків), за наявності в каріотипі додаткової міні-хромосоми (2 випадки), при підозрі на мікроделецію (1 випадок). Із 577



## Результати цитогенетичного і молекулярно-цитогенетичного досліджень випадків мозаїцизму

Геномні мутації	Стандартний цитогенетичний аналіз біоптату ворсин хоріона		Молекулярно-цитогенетичний аналіз біоптату ворсин хоріона	Стандартний цитогенетичний аналіз клітин амніотичної рідини	Молекулярно-цитогенетичний аналіз клітин амніотичної рідини
	Результат цитогенетичного аналізу біоптату ворсин хоріона (прямий метод)	Результат цитогенетичного аналізу біоптату ворсин хоріона (після культивування клітин)	Каріотип плода після FISH на інтерфазних ядрах клітин біоптату ворсин хоріона	Результат цитогенетичного аналізу амніоцитів	Каріотип плода після FISH на метафазах (інтерфазних ядрах) клітин амніотичної рідини
1. Мозаїцизм трисомії хромосоми 21	47,XX,+21[1]/46,XX[16]	47,XX,+21[3]/46,XX[19]	mos nuc ish21 (D21S27x3) [33]/ nuc ish21 (D21S27x2)[147]	47,XX,+21[8]/46,XX[42]	mos nuc ish21 (D21S27x3)[43]/nuc ish21 (D21S27x2)[167]
2. Мозаїцизм трисомії хромосоми 13	47,XY,+13[1]/46,XY[15]	47,XY,+13[2]/46,XY[21]	mos nuc ish13 (D13S915x3) [28]/nuc ish21 (D13S915x2) [172]	47,XY,+13[4]/46,XY[46]	mos nuc ish13 (D13S915x3)[37]/nuc ish21 (D13S915x2)[163]
3. Мозаїцизм трисомії хромосоми 2	47,XX,+2[1]/46,XX[14]	46,XX	—	46,XX	—
4. Мозаїцизм трисомії хромосоми 3	47,XY,+3[1]/46,XY[17]	46,XY	—	46,XY	—
5. Мозаїцизм гоносом	45,X[2]/46,XX [17]	46,XX	nuc ishXcen (DXZx2)[200]	46,XX	nuc ishXcen (DXZx2)[200]
6. Мозаїцизм гоносом	45,X[1]/46,XX [15]	45,X[3]/46,XX [22]	mos nuc ishXcen (DXZ1x1)[64]/nuc ishXcen (DXZx3)[136]/	—	—
7. Мозаїцизм гоносом	47,XXX[2]/46,XX[12]	47,XXX[3]/46,XX [21]	mos nuc ishXcen (DXZ1x1)[18]/nuc ishXcen (DXZx3)[22]/nuc ishXcen (DXZx2)[160]	—	—
8. Мозаїцизм гоносом	47,XXX[1]/46,XX[14]	47,XXX[1]/46,XX [19]	mos nuc ishXcen (DXZx3)[26]/nuc ishXcen (DXZx2)[174]	—	—
9. Мозаїцизм гоносом	47,XXY[1]/46,XY[15]	47,XXY[3]/46,XY [21]	mos nuc ishXcen (DXZ1x2)[61]/nuc ishXcen (DXZx1)[139]	—	—
10. Наявність мозаїчного клону клітин з додатковою маркерною хромосомою	46,XX,+mar[5]/45,X[17]	46,X,+mar[4]/46,XX[19]	mos nuc ishXcen (DXZ1x1)[28]/nuc ishXcen (DXZx2)[172]	—	—
11. Наявність мозаїчного клону клітин з додатковою маркерною хромосомою	—	—	—	47,XY,+mar[5]/46,XY[42]	ish der (12)(wcp12+) [9]/46,XY[197]



проаналізованих стандартним цитогенетичним методом плодів 12 (2,1 %) потребували додаткового молекулярно-цитогенетичного дослідження. В усіх випадках FISH застосовували з уточнюючою метою, при цьому вибір ДНК-зондів базувався на результатах стандартного цитогенетичного аналізу та даних ультразвукового дослідження. Таким чином, молекулярно-цитогенетичний метод не замінював стандартний цитогенетичний аналіз, а доповнював його.

Питання про доцільність використання молекулярно-цитогенетичних або молекулярних методів як експрес-методу виявлення хромосомної патології на пренатальному рівні порушується в багатьох статтях [1; 5]. Випадки хибнопозитивних і хибнонегативних результатів, за оцінками різних дослідників, становлять від 13,2 до 30 % [1; 2]. У літературі накопичилося достатньо випадків із практики хибнонегативних результатів, отриманих за допомогою FISH/QF-PCR на інтерфазних ядрах [2; 6; 7].

Ретроспективний аналіз хромосомної патології у плодів, яка була виявлена цитогенетичними та молекулярно-цитогенетичними методами в нашому дослідженні, показав, що використання виключно FISH на інтерфазних ядрах з альфойдними ДНК-зондами на хромосоми 13, 18, 21, X та Y змогло б виявити 51,6 % хромосомної патології, а відповідно 48,4 % хромосомної патології були б прогаєні. Наші дані узгоджуються з думкою інших авторів: FISH на інтерфазних ядрах не виявляє збалансовані та незбалансовані структурні перебудови, інші анеуплоїдії, на які ДНК-зонди не використовували, мікроструктурні перебудови (делеції, дуплікації), однобатьківську дисомію [1; 2].

Розв'язати цю проблему намагаються за допомогою нових молекулярно-цитогенетичних

методів, використання яких знизило б відсоток хибнопозитивних і негативних результатів. Мова йде про молекулярне каріотипування за допомогою порівняльної геномної гібридизації (CGH), порівняльної геномної гібридизації на мікросіпах (arrayCGH), спільної ампліфікації всіх елементів рекомбінантної конструкції (MLPA). Ці методи тільки починають впроваджуватися в практику, оскільки мають високу собівартість [8].

### Висновки

Ретроспективний аналіз результатів цитогенетичного дослідження каріотипу плодів жінок старшої вікової категорії дозволяє спростувати рекомендації щодо використання FISH для експрес-аналізу як альтернативи пренатальній діагностиці хромосомної патології стандартними цитогенетичними методами. Лабораторії, у яких проводять пренатальну діагностику тільки експрес-аналізом, ризикують отримати хибнонегативні результати, за нашими даними, до 48,4 % випадків.

Застосування FISH на найбільш поширені геномні мутації на інтерфазних ядрах є суттєвим доповненням до каріотипування у разі високого ризику, проте метод не замінює цитогенетичний аналіз хромосом.

Застосовувати FISH необхідно виключно за наявності показань: для ідентифікації хромосомної мутації (при виявленні маркерної хромосоми, підозрі на мікроструктурну перебудову; для уточнення точок розриву при хромосомних перебудовах); при виявленні мозаїчного клону клітин з анеуплоїдією.

Аналіз мозаїцизму методом FISH має низку переваг: дозволяє проводити дослідження на більшому обсязі біологічного матеріалу; має високу інформативну цінність — визначає відсоток клітин з аномальним каріотипом, в окре-

мих випадках виявляє кілька клонів клітин або спростовує попередній висновок. У нашому дослідженні мозаїчних варіантів застосування FISH дозволило визначити відсоток мозаїчного клону, виявити додатковий клон клітин і в одному випадку — спростувати наявність мозаїцизму.

Таким чином, наше дослідження не підтримує точку зору про можливість застосування виключно FISH на інтерфазних ядрах як альтернативи пренатальній діагностиці хромосомної патології стандартними цитогенетичними методами.

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Rapid aneuploidy screening with fluorescence in-situ hybridization: is it a sufficiently robust stand-alone test for prenatal diagnosis?* / A. S. T. Lim, T. H. Lim, M. M. Hess [et al.] // *Hong Kong Med. J.* – 2010. – N 16. – P. 427–433.
2. *Rapid aneuploidy testing (knowing less) versus traditional karyotyping (knowing more) for advanced maternal age: what would be missed, who should decide?* / W. C. Leung, E. T. Lau, W. L. Lau [et al.] // *Hong Kong Med. J.* – 2008. – N 14. – P. 6–13.
3. *Маркерные хромосомы в пренатальной диагностике — тактика идентификации* / А. А. Степанов, Т. Э. Зерова-Любимова, С. В. Денисенко, Н. Г. Горовенко // *Проблеми спадкової та мультифакторної патології: матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю: Київ, 3–4 квітня 2012 р.* – К., 2012. – С. 103.
4. *Идентификация маркерной хромосомы с помощью MFISH у плода с омфалоцеле* / С. В. Денисенко, А. С. Дарий, Л. Л. Фащук, Т. Э. Зерова-Любимова // *Современные технологии в педиатрии и детской хирургии: материалы 8-го Рос. конгр.:* Москва, 19–21 октября 2010 г. – М., 2010. – С. 91–92.
5. *Correlation of abnormal rapid FISH and chromosome results from amniocytes for prenatal diagnosis* / H. E. Wyandt, V. S. Tonk, X. L. Huang [et al.] // *Fetal. Diagn. Ther.* – 2006. – N 21. – P. 235–240.
6. *Complete discrepancy between QF-PCR analysis of uncultured villi and karyotyping of cultured cells in the prenatal diagnosis of trisomy 21 in three CVS* / J. J. Waters, K. Mann, L. Grimsley [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2007. – N 27. – P. 332–339.
7. *Collin A. False-positive prenatal diagnosis of trisomy 18 by interphase*



FISH: hybridization of chromosome 18 alpha-satellite probe (D18Z1) to chromosome 2 / A. Collin, P. Sladkevicius, M. Soller // *Prenat. Dian.* – 2009. – N 29. – P. 1279–1281.

8. Additional informaton form comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis / S. C. Hillman, S. Pretlove, A. Coomarasamy [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2011. – N 37. – P. 6–14.

#### REFERENCES

1. Lim A.S.T., Lim T.H., Hess M.M. Rapid aneuploidy screening with fluorescence in-situ hybridization: is it a sufficiently robust stand-alone test for prenatal diagnosis? *Hong Kong Med. J.* 2010; 16 (6): 427-433.

2. Leung W.C., Lau E.T., Lau W.L., Tang R., Wong S.F., Lau T.K., Tse K.T., Wong S.F., To W.K., Ng L.K., Lao T.T., Tang M.H. Rapid aneuploidy testing (knowing less) versus traditional karyotyping (knowing more) for ad-

vanced maternal age: what would be missed, who should decide? *Hong Kong Med. J.* 2008; 14 (1): 6-13.

3. Stepanov A.A., Zerova-Lyubimova T.E., Denisenko S.V., Gorovenko N.G. Marker chromosomes in prenatal diagnostics — tactics of identification. *Problemi spadkovoi ta multifaktorial'noiipatologii: materialy naukovopraktychnoi konferencii* (Problems of hereditary and multifactorial pathology: Proceedings of International Conference) Kyiv: NMAPO, 2012, p. 103.

4. Denisenko S.V., Dariy A.S., Faschuk L.L., Zerova-Lyubimova T.E. Identification of marker chromosome using MFISH in a fetus with omphalocele, *Sovremennie tehnologii v pediatrii i detsloy hirurgii: materialy VIII Rossiyskogo kongressa* (Contemporary technologies in pediatrics and pediatric surgery: Proceedings of Russian congress) Moscow, 9–21 Oct., 2010, p. 91-92.

5. Wyandt H.E., Tonk V.S., Huang X.L., Evans A.T., Milunsky J.M., Milunsky A. Correlation of abnormal rapid

FISH and chromosome results from amniocytes for prenatal diagnosis. *Fetal. Diagn. Ther.* 2006; 21 (2): 235-240.

6. Waters J.J., Mann K., Grimsley L., Ogilvie C.M., Donaghue C., Staples L., Hills A., Adams T., Wilson C. Complete discrepancy between QF-PCR analysis of uncultured villi and karyotyping of cultured cells in the prenatal diagnosis of trisomy 21 in three CVS. *Prenat. Diagn.* 2007; 27 (4): 332-339.

7. Collin A., Sladkevicius P., Soller M. False-positive prenatal diagnosis of trisomy 18 by interphase FISH: hybridization of chromosome 18 alpha-satellite probe (D18Z1) to chromosome. *Prenat. Diagn.* 2009; 29 (13): 1279-1281.

8. Hillman S.C., Pretlove S., Coomarasamy A., McMullan D.J., Davison E.V., Maher E.R., Kilby M.D. Additional information from array comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2011; 37 (1): 6-14.

Надійшла 17.04.2014

## УДК 617.753.2

Н. А. Ульянова, О. О. Сметюк, Ю. І. Бажора

# ЧАСТОТА ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ *GSTM1* І *GSTT1* У ХВОРИХ НА МІОПІЮ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

## УДК 617.753.2

Н. А. Ульянова, Е. А. Сметюк, Ю. И. Бажора

# ЧАСТОТА ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *GSTM1* И *GSTT1* У БОЛЬНЫХ С МИОПИЕЙ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Миопия — мультифакториальное заболевание, одним из ключевых звеньев патогенеза которого является оксидативный стресс. Целью работы было исследование полиморфизма генов глутатион-S-трансферазы у больных миопией с разной скоростью прогрессирования заболевания. Обследовано 47 больных миопией слабой, средней и высокой степени. Полиморфный участок *GSTM1*, *GSTT1* амплифицировали с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции. Установлено, что наличие делеции генов *GSTT1* и *GSTM1* не является фактором предрасположенности к возникновению миопии. Наличие делеции гена *GSTM1* может быть фактором, повышающим риск прогрессирования миопии. Делеция гена *GSTT1* не влияет на скорость прогрессирования заболевания.

**Ключевые слова:** миопия, глутатион-S-трансфераза, полиморфизм генов.

## UDC 617.753.2

N. A. Ulyanova, O. O. Smetyuk, Yu. I. Bazhora

# FREQUENCY OF POLYMORPHIC GENE VARIANTS *GSTM1* AND *GSTT1* IN PATIENTS WITH MYOPIA

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

**Introduction.** Myopia is a multifactorial disease. One from pathogenesis key of myopia is oxidative stress. It is lack of information on gene polymorphism glutathione-S-transferase in patients with myopia.

**Purpose.** To study glutathione-S-transferase gene polymorphism in patients with myopia with different rates of disease progression.

**Materials and methods.** The study involved 47 patients with myopia of low, mild and high degree. Determination of the polymorphic alleles of the gene glutathione-S-transferases M1 and T1 was performed by isolating genomic DNA from leukocytes. Polymorphic area *GSTM1*, *GSTT1* amplified by multiplex polymerase chain reaction.

