

ОСОБЕННОСТИ СПОНТАННОГО МУТАГЕНЕЗА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ХРОМОСОМНЫМИ И МИКРОДЕЛЕЦИОННЫМИ СИНДРОМАМИ

Багацкая Н. В., Ковалева В. И., Нефидова В. Е.
ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН»,
Украина, 61153, Харьков, пр. 50-лет ВЛКСМ, 52-А,
e-mail: iozdp@ukrpost.ua, n_bagatskaya@mail.ru

Введение. Одной из чрезвычайно важных и сложных проблем, которые привлекают внимание генетиков, являются наследственные заболевания, частота которых существенно возрастает в последние десятилетия. Наследственные заболевания могут проявляться в виде пороков развития или других патологических состояний детского возраста. Аномалия одного или нескольких детерминант пола, поломка комплексного механизма «запускающего» физическое и половое развитие, могут привести к многообразию клинических форм нарушений половой дифференцировки. Различные хромосомные aberrации, генные мутации, способствуя нарушению гормонального баланса или изменению рецепции гормонов в эмбриональном периоде, могут быть причинами врожденных аномалий полового развития. Кроме того, врожденные нарушения половой дифференцировки также могут быть обусловлены различными эмбриотоксическими факторами (интоксикацией, инфекцией, травмами, воздействием лекарственных препаратов), нарушением гормонального баланса у беременной в ответственные за формирование полового тракта периоды эмбрионального развития.

Цель исследования – изучить состояние хромосомного аппарата у детей и подростков с подозрением на хромосомную патологию.

Материалы и методы. Цитогенетическое исследование было проведено у 67 больных обоего пола, обследованных в ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН»: 17 мальчиков и 50 девочек. Из них 7 детей с синдромом Прадера-Вилли (2 девочки и 5 мальчиков); 45 девочек с синдромом Шерешевского-Тернера; 15 мальчиков с синдромом Клайнфельтера. Контрольную группу составили 40 здоровых пробандов (29 девочек и 11 мальчиков) в возрасте 7-18 лет, которые были отобраны при проведении эпидемиологических исследований. При исследовании спонтанного мутагенеза количество метафаз составляло: 3524 – в контрольной группе и 2210 в группе больных детей обоего пола (из них 238 – у больных с синдромом Прадера-Вилли; 506 – в группе мальчиков с синдромом Клайнфельтера; 1466 – в группе девочек с дисгенезией гонад (синдромом Шерешевского-Тернера)), которые изучались с помощью бинокулярных микроскопов «Leica Galen III», «Ergoval» и «Leica CME», окуляр 10x18, объектив 100x, бинокулярная насадка 1,25x.

Применяли дифференциальное GTG- окрашивание и, в некоторых случаях, С- и Q-окраску. В отдельных случаях больным проводили методику FISH на интерфазных и метафазных хромосомах. Статистические расчеты выполнены с использованием прикладного пакета программ *Excel*, *SPSS Statistics 17,0*. Для выявления значимости различий между сравниваемыми показателями использовали критерий Стьюдента и χ^2 .

Результаты исследований. Среди мальчиков с нарушениями половой системы регулярная форма синдрома Клайнфельтера была установлена у 46,7 % мальчиков, мозаичная – у 53,3 %. Уровень aberrаций хромосомного типа в группе больных мальчиков регистрировался значимо чаще, чем у здоровых сверстников (5,71 и 4,39 % соответственно, $\chi^2 = 7,79$; $p < 0,01$). Оценивая общую частоту aberrаций хроматидного и хромосомного типа у больных мальчиков, установили повышение этих показателей (3,36%) в сравнении со здоровыми мальчиками (1,63%; $\chi^2 = 4,46$; $p < 0,05$). Вместе с тем, частота всех нарушений хромосом у больных с синдромом Клайнфельтера составила 3,56%, что почти в 2 раза превышало уровень нарушений хромосом у здоровых сверстников (1,95%; $\chi^2 = 1,85$; $p > 0,05$). У одного больного с синдромом Клайнфельтера кариотип имел три клона клеток – *mos 45,X / 46,Xder(Y) / 47,XXY*.

Среди девочек с дисгенезией гонад у 31,1 % была установлена регулярная моносомия X – синдром Шерешевского-Тернера; у 68,9 % девочек – мозаичная форма синдрома. В общей группе девочек частота хромосомных aberrаций составила 3,14 %, что в 1,5 раза выше, чем у здоровых сверстниц (2,26 %, $p < 0,05$). У девочек с регулярной формой синдрома уровень хромосомных aberrаций был 3,96 %; у девочек с мозаичной формой синдрома – 3,42 %. У всех обследованных регистрировались aberrации хроматидного (одиночные фрагменты), хромосомного (парные фрагменты, разрывы по центромере, терминальные делеции) и геномного (полиплоидные клетки) типов. Среди интересных цитогенетических находок следует отметить наличие мозаичного кариотипа с изохромосомой –

mos 45,X/46,Xi(X)p/46,XX; кариотипа *mos*45,X/47,XXX/46,XX; кариотипа с радиальной X-хромосомой – *mos* 45,X/46,XX, r/46,XX.

У больных с синдромом Прадера-Вилли (СПВ) был установлен мозаичный мужской и женский кариотип с микроделецией длинного плеча 15 хромосомы – *mos* 46,XY,del (15)(q11-13)/46,XY; *mos* 46,XX,del (15)(q11-13)/46,XX. Спонтанный уровень хромосомных нарушений у больных с синдромом Прадера-Вилли составил 2,52 %, что в 1,5 раза выше, чем в группе здоровых сверстников (1,95 %). У больных мальчиков значимо чаще регистрировалось увеличение частоты преждевременного расхождения центромер (0,42% у больных с СПВ; $\chi^2 = 4,77$; $p < 0,05$) и делеции короткого плеча (0,42 % у больных с СПВ; $\chi^2 = 4,77$; $p < 0,05$) при полном отсутствии данных нарушений у здоровых лиц.

Выводы. Таким образом, проведение цитогенетического исследования позволило установить кариотип и уровень хромосомных aberrаций обследованных пациентов.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗОВ У ДЕТЕЙ

Баянова М. Ф., Камалиева Б. О., Жумажанова Д. К., Мулеван Л. И., Абильдинова Г. Ж.
Национальный научный центр материнства и детства, Астана, Казахстан

Введение. Определение специфических генетических изменений лейкозных клеток позволяет судить о типе лейкозного процесса и прогнозировать течение острых лейкозов у детей.

Цель. Изучение эффективности комплексного использования стандартного цитогенетического (СЦИ) и молекулярно-цитогенетического методов диагностики (FISH) при диагностике острых лейкозов у детей.

Материалы и методы исследований. Материалом для исследования явились клетки костного мозга пациентов с острыми лейкозами. При культивировании клеток костного мозга применялся стандартный метод кратковременного культивирования с учетом оптимальной плотности клеток. Молекулярно-цитогенетические исследования были проведены в аккредитованной лаборатории, соответствующего стандарту СТ РК ИСО 15189-2008. Интерпретацию анализов осуществляли по Международной номенклатуре ISCN (2013).

Результаты и обсуждение. Были изучены 344 кариотипа костного мозга детей с острыми лейкозами, среди которых 80 % (275) детей были с острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) и 20 % (69) с острыми миелобластными лейкозами (ОМЛ). Изменения кариотипа бластных клеток костного мозга были обнаружены в 55 случаях, причем 65 % случаев характерные для ОЛЛ. Спектр хромосомного профиля острых лейкозов был представлен структурными (82 %) и числовыми (18 %) цитогенетическими нарушениями кариотипа. Среди наиболее частых цитогенетических аномалий при ОЛЛ были выявлены транслокации t(9;22)(q34;q11) в 12 случаях, транслокации t(4;11)(q21;q23) в 8 случаях, трисомия 21 хромосомы в 6 случаях. Наиболее частой причиной ОМЛ были транслокации t(8;21)(q22;q22) в 11 случаях, трисомия 8 хромосомы в 6 случаях. Молекулярно-цитогенетический метод (FISH) был использован в комплексе со СЦИ, при котором BCL/ABL был определен в 35% случаев ОЛЛ, а RUNX1/RUNX1T1 в 25% случаев при ОМЛ, как результат слияния кодирующих областей двух генов.

Выводы. Таким образом, использование цитогенетического и молекулярно-цитогенетического методов диагностики острых лейкозов позволяет дифференцировать не только форму лейкоза, но и мониторить лечение заболевания.