

кореляції передисположеності к захворюванням данного індивіда в залежності от генетического статуса.

Робота выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 07-04-00708-а и № 08-04-12225-офи).

Литература

1. *Сельцовский П.П., Литвинов В.И.* Социальные аспекты эпидемиологической ситуации по туберкулезу. – Москва: МНПЦБТ.- 2004.- 224с.
2. *Lin H.H., Ezzati M., Murray M.* Tobacco smoke, indoor air pollution and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis // PLoS Med.- 2007.- vol. 4, № 1.- P.173-189.
3. *Хансон К.П., Имянитов Е.Н.* Современные представления о канцерогенезе рака шейки матки // Практическая онкология.- 2002.- т. 3, № 3.- С.145-155.
4. *Киселев Ф.Л., Мазуренко Н.Н., Волгарева Г.М., Киселева Н.П.* Взаимодействие вирусных и клеточных генов в опухолях шейки матки // Молекулярная биология.- 2004.- т. 38, № 2.- С.224-232.
5. *Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T.* Molecular Cloning: A Laboratory manual. – New York: Cold Spring Harbor Lab. Press.- 1989.

Резюме

Проведен сравнительный анализ полиморфизма генов системы биотрансформации с риском развития туберкулеза легких и рака шейки матки с помощью биочипов. Показано, что полиморфные варианты генов *CYP2D6*, *GSTT1*, *GSTM1* и *NAT2* могут служить прогностическими факторами риска развития данных многофакторных патологий у жителей Европейской части России во взрослом возрасте.

The comparative analysis of polymorphism in xenobiotic-metabolizing genes with the risk of development of pulmonary tuberculosis and cervical cancer was done using microarray. It was shown that polymorphic variants of genes *CYP2D6*, *GSTT1*, *GSTM1* and *NAT2* may consider as predictive markers for risk of development of the given multifactorial pathologies in residents of European part of Russia at adult age.

ГУЛЕЮК Н.Л.

ДУ "Інститут спадкової патології АМН України"

Україна, 79003, Львів, вул. Лисенка, 31а, e-mail: huleyuk@yahoo.com

МОЗАЙЦИЗМ В КУЛЬТУРАХ АМНІОЦИТІВ: АНАЛІЗ ВИПАДКІВ У ЛЬВІВСЬКОМУ ММГЦ

Мозаїцизм є характерною рисою живих організмів. Цитогенетики під мозаїцизмом мають на увазі присутність у обстежуваного декількох клітинних ліній з різним каріотипом. При істинному (генералізованому) мозаїцизмі різні клони клітин зустрічаються у всіх досліджуваних тканинах організму. При обмеженому мозаїцизмі клітини з хромосомними аномаліями зустрічаються тільки в одній тканині.

Вважається, що мозаїцизм є наслідком нерозходження хромосом на доімплантаційній стадії розвитку зиготи. Частка різних клонів клітин та їх локалізація залежить від того, на якій стадії розвитку ембріона відбулось нерозходження, від проліферативних властивостей та життєздатності клітин з аномальним каріотипом [1].

Останні дослідження показують, що ~5% людей мають декілька цитогенетично відмінних клітинних ліній. Відомі синдроми, для яких характерний хромосомний мозаїцизм. Зокрема, до хвороб з обмеженим мозаїцизмом, належить с.Паллістера-Кіліана (тетрасомія по коротким плечам 12-ї хромосоми, переважно у вигляді i12p) [2]. Тканинно обмежений мозаїцизм описаний для тетрасомій 5p [3], 8p [4], 9p та 18p [5]. Зафіксовані

рідкісні випадки істинного мозаїцизму по хромосомам 2, 5, 16 та 22 [6]. Все частіше висловлюється думка, що чиста моносомія по X-хромосомі елімінується на різних стадіях внутріутробного розвитку, а всі народжені дівчатка з встановленою на культурі лімфоцитів гоносомною моносомією мають клітини з нормальним набором хромосом в інших тканинах. Існує припущення, що всі живонароджені діти мають різну кількість клітин з моносомією по статевій хромосомі [7].

Виявлення хромосомного мозаїцизму у матеріалі, отриманому під час інвазивної пренатальної діагностики створює проблеми при трактуванні цитогенетичного результату [8-10, 12,13]. Обмежений плацентою мозаїцизм зустрічається ~2% випадків від всіх пренатальних діагностик, виконаних на хоріоні/плаценті. Саме в цих органах формуються і довго зберігаються клони з трисомією, тоді як у клітинах власне ембріона/плода спостерігається нормальний каріотип [1, 7]. Ще однією проблемою є встановлення хромосомних змін виключно у власне ембріональних/плодових тканинах – амніоцитах, фетальних лімфоцитах, фібробластах [7, 11]. Деколи встановлена в амніоцитах хромосомна патологія не фіксується після народження в лімфоцитах – стандартній культурі для каріотипування. В таких випадках необхідне каріотипування інших тканин, наприклад, фібробластів [1, 7, 11,12].

Зростаюча кількість досліджень із використанням FISH-зabarвлення на інтерфазних ядрах дозволяє виявити невелику кількість клітин із хромосомними змінами. Тому все частіше постає питання, яка кількість клітин є критичною для коректного встановлення мозаїцизму [2, 14].

Отже, питання взаємозв'язку між генералізованим/обмеженим мозаїцизмом та вродженими вадами розвитку у більшості випадків є невирішене. Удосконалення методів дослідження свідчить про тенденцію до підтвердження мозаїцизму навіть при незначній кількості клітин з відмінним від основного каріотипом.

Матеріал та методи

Амніотичну рідину отримували шляхом трансабдомінального амніоцентезу. Культивування амніоцитів виконували на флаконах та слайд-флаконах фірми Nunc (кат. № 163371 та №170920) з додаванням середовища AmnioMAX C100 фірми Gibco [15]. В кожному випадку ставили дві-три незалежні культури. З метою отримання якісних середньомітотичних та ранньомітотичних хромосом одночасно з коліцином вводили бромистий етидій в концентрації 10 мкг/мл. Цитогенетичні дослідження проводили згідно стандартної методики та загальноприйнятим положенням [16, 17].

Результати та обговорення

Проаналізували результати цитогенетичного дослідження 460 культур амніоцитів, отриманих від жінок з групи ризику по народженню дітей з хромосомною патологією. У 7-ми випадках (1,52%) встановлений мозаїцизм (табл.1), причому у 3-х культурах - по статевим хромосомам, у двох – по маркерній хромосомі, у 2-х – делеція та інверсія аутосом. У більшості випадків основним показом до проведення пренатальної діагностики було відхилення показників біохімічних маркерів 1-го та/або 2-го триместру в сироватці крові вагітної. Неоднозначне трактування викликав випадок 45,X[3]/46,XY[27], так як мозаїцизм спостерігався тільки в одній з двох незалежних культур і міг бути наслідком дії препаратів, застосованих з метою зберігання вагітності у першому триместрі. А, як відомо, мозаїцизм по Y-хромосомі викликає зміни гормону росту та дисгенезію гонад у осіб чоловічої статі [18], що, в кінцевому результаті, приводить до непліддя.

Таблиця 1 – Характеристика мозаїчних випадків та основних показів до проведення інвазивної пренатальної діагностики

№п/п	Каріотип	Покази до проведення амніоцентезу
1	45,X[9]/46,XX[21]	зміни біохімічних маркерів в сироватці крові вагітної
2	45,X[18]/47,XXX[2]46,XX[2]	зміни біохімічних маркерів в сироватці крові

		вагітної
3	45,X[3]/ 46,XY[27]	зміни біохімічних маркерів в сироватці крові вагітної
4	46,XX[27]/47,XX+mar[3]	ускладнений генетичний анамнез
5	46,XX[17]/ 47,XX+mar[9]	ускладнений генетичний анамнез
6	46,XX[24]/ 46,XX,inv(4)(pterq31)[3]	зміни біохімічних маркерів в сироватці крові вагітної, ускладнений акушерський анамнез
7	46,XY[24]/46,XY,del(11)(q14)[3]	зміни біохімічних маркерів в сироватці крові вагітної

Поодинокі колонії з аномальним каріотипом виявили у 4-х випадках при аналізі препаратів, отриманих на слайд-флаконах (табл.2). У 3-х випадках зафіксували делеції аутосом, в одному – додаткову маркерну метацентричну бісателітну мікро хромосому. Вона по розмірам та структурі відповідала коротким плечам акроцентричних хромосом і, скоріш за все, утворилась внаслідок робертсонівської транслокації, діагностованої у вагітної. Можна припустити, що при каріотипуванні різних тканин із застосуванням FISH-забарвлення на прицентромєрні ділянки 13-ї та 22-ї хромосом її виявили б і у матері. Такі маркери не асоціюються з вродженими вадами розвитку та мають властивість з часом втрачатись [1]. Тому цей випадок можна трактувати і як низькодозовий мозаїцизм з тенденцією до елімінації аномального клону.

Таблиця 2 - Характеристика культур амніоцитів, у яких виявлені поодинокі колонії з відмінними від основного каріотипом

№ п/п	Основний каріотип	Каріотип аномальних колоній	Частка метафаз з різними каріотипами
1	45,XX,der(13;22)(p10;p10)mat	46,XX,der(13;22)(p10;p10) +mar	30 : 3
2	45,XX,der(14;21)(p10;p10)mat	45,XX,der(14;21)(p10;p10), del (12) (p12)	33 : 2
3	46,XY	46,XY, del (11) (q14)	33 : 2
4	46,XY	46,XY,del(13)(q31)	27:3

Висновки. Отже, отримані результати свідчать про неоднозначність трактування результатів пренатальної діагностики при виявленні декількох цитогенетичних різних клонів клітин і вимагають додаткових обстежень з метою коректних рекомендацій щодо даної вагітності. Для уникнення псевдопозитивних/псевдонегативних результатів необхідне пренатальне/постнатальне хромосомне обстеження декількох різних тканин плоду або новонародженої дитини.

Література

1. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития.-Санкт-Петербург.-Изд-во Н-Л.- 2007.- 639с.
2. Tissue-limited mosaicism in Pallister-Killian syndrome - a case in point / S. Choo, S.H. Teo, M. Tan, M.H. Yong, L.Y. Ho. // Journal of Perinatology.- 2002.- V.22.- P.420 – 423.
3. Tetrasomy 5p mosaicism in a boy with delayed growth hypotonia, minor anomalies, and an additional isochromosome 5p [46,XY/ 47,XY,+i(5p)]. / Sijmons R.H., Leegte B., van Lingen R.A., et al. // Am. J. Med. Genet.- 1993.- V.47.- P.559–562.
4. Rijnvos W.P., Smeets D.F., Fryns J.P. Mosaic tetrasomy 8p in two patients: clinical data and review of the literature. // Am. J. Med. Genet.- 1994.- V.50.- P.377–380.
5. Tetrasomy 9p: tissue – limited idic(9p) in a child with mild manifestations and a normal CVS result. Report and review. / Grass F.S., Parke J.C.Jr., Kirkman H.N., et al. // Am.J.Med.Genet.- 1993.- V.47.- P.812–816.

6. Rare trisomy mosaicism diagnosed in amniocytes, involving an autosome other than chromosomes 13, 18, 20, and 21: karyotype / phenotype correlations. / Hsu L.Y., Yu M.T., Neu R.L., et al. // *Prenatal. Diagn.*- 1997.- V.17.- P.201–242.
7. Ворсанова С.Г., Юров В.Б., Чернышов В.Н. Медицинская цитогенетика.-М., Медпрактика.- 2006.- 299с.
8. A case of discordant related abnormal karyotypes from chorionic villi and amniocytes / Porter S., Wilson E.et al.// *Prenatal Diagnosis.*- 1999.- V.19, №9.- P.887-890.
9. Schinzel A. Discrepancies in cytogenetic results between different tissues in two fetuses with Wolf-Hirschorn syndrome // *Cytog.Cell Genet.*- 2000.- V.91, №1-4.- P.231-233.
10. Prenatal diagnosis of mosaicism for 11q terminal deletion. / Valduga M., Latger Cannard V., Philippe C., Romana S., Miton A., Droulle P., Foliguet B., Lecompte T., Jonveaux P. // *Eur.J.Med.Genet.*- 2007.- V.50, N6.- P.475- 481.
11. Pallister - Killian syndrome: normal karyotype in prenatal chorionic villi, in postnatal lymphocytes, and in slowly growing epidermal cells, but mosaic tetrasomy 12p in skin fibroblasts. / Horn D., Majewski F., Hildebrandt B., Korner H. // *J. Med. Genet.*- 1995.- V.32.- P.68–71.
12. Scheuerle A., Heller K., Elder F. Complete trisomy 1q with mosaic Y;1 translocation: A recurrent aneuploidy presenting diagnostic dilemmas. // *Am.J.Med.Genet.*- 2005.- V.138A.- P.166-170.
13. Clinical, cytogenetic and molecular findings in 45,X/47,XX,+18 mosaicism: clinical report and review of the literature / Schubert R., Eggermann T.et al. // *Amer.J.Med. Genet.*- 2002.- V.110, №3.- P.278-282.
14. Prenatal diagnosis of low level trisomy 15 mosaicism: review of the literature [Short Report]. / Zaslav A.L., Fallet S., Brown S., Ebert R., Fleischer A., Valderama E., Fox J. E. // *Clin.Genet.*- 1998.- V.53, №4.- P.286-292.
15. Методи культивування амніоцитів. Гулеюк Н.Л., Заставна Д.В., Безкоровайна Г.М., Гнатейко О.З. Методичні рекомендації.- Київ.- 2005.- 17с.
16. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини. Зерова-Любимова Т.Е., Горovenko Н.Г. Методичні рекомендації.- Київ.- 2003.- 23с.
17. ISCN (2005): An International System for Human Cytogenetic Nomenclature // Shaffer L.G., Tommerup N.(eds).- Karger, Basel.- 2005.- 131p.
18. Short stature in children with an apparently normal male phenotype can be caused by 45,X/46,XY mosaicism and is susceptible to growth hormone treatment. / Unruh A.R., Fischer S.K., Kaspers S. et al. // *Europ.J.of Pediatrics.* - 2004. - 163, N4-5. - P.251-256.

Резюме

Проаналізовані 7 випадків мозаїцизму встановлених під час цитогенетичного аналізу 460 культур амніоцитів. У 3-х культурах зафіксований мозаїцизм по статевим хромосомам, у двох – мозаїцизм по маркерній хромосомі, у решті – делеції та інверсія аутосом. У більшості висвітлених випадків основним показом до проведення інвазивної пренатальної діагностики були зміни біохімічних маркерів 1-го та/або 2-го триместру в сироватці крові вагітної. Окрім того, у 4-х культурах занотовані поодинокі колонії з відмінним від основного каріотипом. Наголошується необхідність проведення каріотипування декількох тканин плода або народженої дитини з метою підтвердження істинного чи обмеженого мозаїцизму.

Проанализированы 7 случаев мозаицизма, установленных при цитогенетическом анализе 460 культур амниоцитов. В 3-х культурах зафиксирован мозаицизм по половым хромосомам, у двух – мозаицизм по маркерной хромосоме, у остальных – делеции и инверсия аутосом. Главным показанием для проведения инвазивной пренатальной диагностики в большинстве приведенных случаев были отклонения результатов биохимических маркеров 1-го и/или 2-го триместра в сыворотке крови беременной. Кроме того, в 4-х культурах отмечены единичные колонии с набором хромосом, отличающимся

от основного. Указывается на необходимость проведения кариотипирования разных тканей плода или рожденного ребенка с целью подтверждения истинного либо ограниченного мозаицизма.

Out of 460 amniocyte cultures, 7 cases of mosaicism were detected and cytogenetically analyzed. In 3 cultures sex chromosome mosaicism was detected, in 2 cultures – **marker chromosome** mosaicism, in remaining 2 cultures – deletions and inversions of autosomes. In most of the presented cases, main stimuli for performing invasive prenatal diagnostics were changes in biochemical markers of the blood serum of pregnant women in their 1-st and/or 2-nd trimester. In addition, individual colonies with a phenotype deviant from the main cell phenotype were detected in 4 cultures. Stress is laid on the strong need for performing karyotyping of several tissues from fetus or from the born child in order to confirm a true or tissue-limited mosaicism.

ГУЛЬКО Т.П., КОВАЛЬЧУК М.В.

*Институт Молекулярной биологии и генетики НАН Украины,
Украина, 03143, Киев, ул. Заболотного, 150*

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЫШЕЙ, ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К СПОНТАННЫМ НОВООБРАЗОВАНИЯМ.

В экспериментальной онкологии широко используют модели грызунов, особенно, мышей со спонтанными опухолями. Более адекватными моделями онкологических заболеваний человека являются те, которые подразумевают использование животных со спонтанно возникающими новообразованиями. Такие модели широко используются для исследования механизмов возникновения и развития опухолей, т.к. в этих случаях опухоль образуется из клеток организма, подвергшихся спонтанной злокачественной трансформации [1,2].

Исследования на моделях линий мышей, предрасположенных к спонтанным новообразованиям, позволяют приблизиться к пониманию основных биологических свойств неопластических заболеваний человека, и разработать новые эффективные подходы к воздействию с целью лечения или уменьшения риска онкозаболеваний [3].

В нашей работе использовались половозрелые мыши (2-2,5 мес.) линии ICR, которая является потомством аутбредной популяции полученной в Institute of Cancer Research (США), и путем близкородственных скрещиваний животных в сочетании тщательной селекцией поддерживается с начала 80-х годов в виварии Института Молекулярной биологии и генетики НАН Украины [2,3].

Постоянное и широкое использование в экспериментах линейных животных требует регулярных и объективных сведений об их физиологических и молекулярно – генетических особенностях.

Целью данного исследования было изучение некоторых физиологических и молекулярно-генетических особенностей описанной выше популяции мышей. Работа была предпринята для оптимизации использования этих животных в изучении онкогенеза, в частности, развития рака молочной железы, который является одной из самых частых форм злокачественных новообразований у человека и животных [3,4]. Для изучения оптимальных подходов в осуществлении генетических манипуляций был проведен поиск молекулярных маркеров для изучаемой линии. Известно, что фрагменты некодирующих (а потому накапливающих мутации) повторяющихся последовательностей ДНК могут служить молекулярными маркерами как геномов линий, так и индивидуальных геномов. Микросателлитные локусы с большой частотой