

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА
БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ, БІОХІМІЇ ТА ГЕНЕТИКИ

ЦИТОГЕНЕТИЧНА ДІАГНОСТИКА СПАДКОВОЇ ПАТОЛОГІЇ ЛЮДИНИ

Електронні методичні рекомендації

до самостійної роботи

для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня навчання
зі спеціальностей 014 «Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)»,
091 «Біологія», 162 «Біотехнології та біоінженерія»,
226 «Фармація, промислова фармація»

ОДЕСА
ОНУ
2023

УДК 575:616
Ц74

Укладач:

О. Л. Січняк, кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

Рецензенти:

Г. В. Майкова, кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри фізіології людини і тварин Одеського національного університету імені І. І. Мечникова;

С. Я. Підгорна, кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри зоології Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

*Рекомендовано вченою радою
біологічного факультету ОНУ імені І. І. Мечникова.
Протокол № 8 від 7 червня 2022 р.*

Ц74 **Цитогенетична** діагностика спадкової патології людини [Електронний ресурс]: електрон. метод. рекомендації до самостійної роботи для здобувачів спеціальностей 014 «Середня освіта (Біологія і здоров'я людини)», 091 «Біологія», 162 «Біотехнології та біоінженерія», 226 «Фармація, промислова фармація» / уклад. О. Л. Січняк. – Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2023. – 84 с. – 1,3 МБ.

Методичні рекомендації розроблені відповідно до вимог навчальної програми з дисципліни «Цитогенетична діагностика спадкової патології людини». Мета видання – допомогти студентам засвоїти теоретичні розділи курсу та якісно підготуватися до семінарських / практичних занять. Методичні рекомендації містять перелік теоретичних питань і контрольних питань по темах семінарських / практичних занять, базові теоретичні відомості для підготовки, завдання для самостійного опрацювання окремих питань, перелік допоміжної літератури. Послідовність занять відповідає навчальній програмі.

Призначені для здобувачів другого рівня вищої освіти за спеціальностями 014 «Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)», 091 «Біологія», 162 «Біотехнології та біоінженерія», 226 «Фармація, промислова фармація».

УДК 575:616

ЗМІСТ

Загальні відомості	4
Тема 1: Загальна цитогенетика людини	6
Завдання і контрольні питання до теми 1	14
Тема 2: Цитогенетичні методи дослідження хромосом	16
Завдання і контрольні питання до теми 2	21
Тема 3: Молекулярно-цитогенетичні методи дослідження хромосом	22
Завдання і контрольні питання до теми 3	27
Тема 4: Хромосомні аномалії та синдроми	28
Завдання і контрольні питання до теми 4	45
Тема 5: Міжнародна класифікація та номенклатура хромосом при хромосомних синдромах та аномаліях	47
Завдання і контрольні питання до теми 5	68
Тема 6: Онкоцитогенетика	69
Завдання і контрольні питання до теми 6	81
Список літератури	82
Інформаційні ресурси	82

Загальні відомості

Навчальна дисципліна «Цитогенетична діагностика спадкових патологій людини» (курс за вибором) є складовою освітньо-професійних програм, вивчається студентами зі спеціальностей 014 «Середня освіта (Біологія і здоров'я людини)», 091 «Біологія», 162 «Біотехнології та біоінженерія», 226 «Фармація, промислова фармація» другого рівня навчання. Курс є складовою клітинного та молекулярного підходу до вивчення живого і тісно пов'язаний із іншими дисциплінами, що складають фундамент біологічних наук. Навчальна дисципліна «Цитогенетична діагностика спадкових патологій людини» базується на дисциплінах відповідних ОП з питань цитології, біохімії, генетики та молекулярної біології, анатомії та фізіології людини, основ медичних знань та безпечної життєдіяльності і закладає підґрунтя для подальшого засвоєння студентами знань та вмінь з дисциплін другого рівня підготовки зазначених ОП.

Завданням курсу є ознайомлення студентів з особливостями каріотипу людини в нормі і за різноманітних патологічних станів, зв'язками між різними типами хромосомних аберацій і патологіями у людини, основними методами дослідження каріотипу людини і особливостями їх застосування для потреб конкретних лабораторних досліджень, а також із зв'язками між каріотипами та прогнозом хвороби внаслідок застосування різних препаратів.

У результаті вивчення даного курсу студент повинен

знати: сучасні цитогенетичні та молекулярно-цитогенетичні методи досліджень, структуру і функції хромосом, каріотип людини в нормі та шляхи його змін за патологічних станів.

вміти: працювати з науковою та навчальною літературою, володіти елементарними навичками науково-дослідницької роботи з використанням цитогенетичних молекулярно-цитогенетичних, а також набути інших вмінь та навичок відповідно до вимог ОПП магістра.

Дані рекомендації призначені для підготовки студентів до семінарів або практичних занять (в залежності від навчальної програми спеціальності). Студенти мають отримати відправну точку для роботи з більш докладними навчальними матеріалами та науковими публікаціями для якісної підготовки до семінарів, а також ознайомитися з прикладами завдань для практичних занять.

Тема 1. Загальна цитогенетика людини

Мета: сформувати уявлення про нормальний каріотип людини та особливості його формування

Теоретичні питання

1. Нормальний каріотип людини.
2. Номенклатура і класифікація хромосом.
3. Характеристика хроматину людини.
4. Особливості мейозу людини.

Опорні відомості для опрацювання теоретичних питань

Каріотип людини, як сукупність даних про структуру, розміри та кількість мітотичних хромосом, встановлено на початку 1960-х рр. Метафазна хромосома складається з двох хроматид (сестринські хроматиди) і центромери. Центромера – структура фундаментального значення: в мітозі вона з'єднується з нитками клітинного веретена і визначає розходження сестринських хроматид до різних полюсів у клітині, що ділиться. Центромера ділить хромосому на два плеча – коротке (p) і довге (q). Залежно від положення центромери хромосома може бути метацентричною (рівноплечою), субметацентричною (майже рівноплечою) та акроцентричною (різко нерівноплечою). В акроцентричних хромосомах досить часто на коротких плечах видно невеликого розміру хроматичні тільця – супутники. Нитки вторинної перетяжки, які відділяють супутник, містять ядерцевий організатор – важливу структуру геному людини. Ділянки на обох кінцях хромосоми називаються теломерами. Структури у вигляді точки прикріплення ниток мітотичного веретена до центромери називають кінетохором.

Диплоїдний набір людини містить 46 хромосом: 22 пари аутосом, статеві хромосоми (гоносоми) X і Y. Хромосомами XX характеризується жіночий каріотип, хромосомами X і Y – чоловічий. Гомологічні хромосоми, в основному, подібні в розмірах і будові, хоча можуть зустрічатися відхилення в межах нормального гетероморфізму гомологів. Хромосоми людини за Денверською класифікацією (1960), яка спирається на рутинне забарвлення і співвідношення плечей

хромосом, діляться на 7 груп – А, В, С, D, Е, F, G. Після розробки методів диференціального забарвлення хромосом, зокрема G-фарбування, стало можливим більш надійно ідентифікувати хромосоми всередині груп, що привело до затвердження Паризької класифікації (1971). З введенням в практику цитогенетичних досліджень використання прометафазних хромосом, що дозволило підвищити роздільну здатність методу, була встановлена «Міжнародна система цитогенетичної номенклатури хромосом людини – сегментація хромосом з високою роздільною здатністю», або ISCN (1981).

До групи А відносять хромосоми 1, 2 і 3, які добре відрізняються. Хромосома 1 (~11 мкм) – метацентрична. Ділянки значної частини обох плечей цієї хромосоми і теломерні райони рано закінчують реплікацію. Хромосома 2 (~10,8 мкм) – субметацентрична. Реплікацію закінчує пізніше хромосоми 1. Хромосома 3 (~8,3 мкм) – майже метацентрична, її центромерний район реплікується найбільш пізно.

До групи В відносяться хромосоми 4 і 5 (~7,7 мкм кожна) – великі субметацентричні хромосоми, які не розрізняються за розмірами і розташуванням центромер. Відносяться до пізніх реплікантів і розрізняються за часом закінчення синтезу ДНК: в довгих плечах хромосоми 5 цей процес закінчується раніше, ніж в хромосомі 4.

До групи С відносяться хромосоми з 6 по 12 і X. В основному це субметацентричні хромосоми великих і середніх розмірів. Хромосоми 6, 7 і X (7,2-6,8 мкм) – найбільші хромосоми групи С. Інактивована хромосома X формує в інтерфазному ядрі жінки тільки хроматину X (так зване тільки Бара). Хромосома X є самим пізнім реплікантом в хромосомному наборі. Хромосоми 8 і 9 (~5,8 мкм) майже однакові за розміром. Хромосома 9 характеризується регулярною вторинною перетяжкою в прицентромерному районі довгого плеча. Специфічних особливостей реплікації не зазначено.

До групи D відносять хромосоми 13,14 і 15 (~4,2 мкм) – середніх розмірів акроцентричні хромосоми з майже термінально розташованими центромерами. Коротке плече всіх трьох пар

хромосом потенційно може формувати супутники, проте не в кожній клітині і не у всіх індивідуумів виявляють супутники. Хромосома 15 є раннім реплікантом, хромосома 13 – найбільш пізній реплікант, а хромосома 14 займає проміжне положення.

До групи E відносять хромосоми 16, 17 і 18. Хромосома 16 (~3,6 мкм) – порівняно коротка метацентрична хромосома, містить вторинну перетяжку в довгому плечі, відноситься до ранніх реплікантів. Хромосома 17 (~3,5 мкм) – порівняно коротка субметацентрична хромосома, відноситься до найбільш ранніх реплікантів. Хромосома 18 (~3,2 мкм) – найкоротша субметацентрична хромосома в цій групі, належить до пізніх реплікантів.

Група F представлена хромосомами 19 та 20 (~2,9 мкм) – короткими метацентричними хромосомами, які неможливо розрізнити без диференціального фарбування; закінчують реплікацію дуже рано.

Хромосоми 21 та 22 відносяться до групи G. Хромосома 21 (~2,3 мкм) – найбільш коротка акроцентрична хромосома в каріотипі. Коротке плече може формувати супутники. Ця хромосома – більш пізній реплікант, ніж хромосома 22. Хромосома 22 (~2,8 мкм) – коротка акроцентрична хромосома, також здатна формувати супутники на короткому плечі. Реплікується в кінці S-періоду, але раніше хромосоми 21. Хромосома Y (~2,3 мкм) – маленька акроцентрична хромосома, подібна за розмірами хромосомам 21 і 22, але не має супутників. Має великі гетерохроматинові райони, є пізнім реплікантом.

Клітина людини має два геноми: складний геном ядерної, або хромосомної ДНК і простий мітохондріальний геном. Ядерний геном розподілений між 23 різними двоспіральними молекулами ДНК, які в комплексі з гістоновими і негістоновими білками формують індивідуальні хромосоми. Вміст ДНК в хромосомах варіює від 50 до 260 млн. пар основ.

Структура хромосом зазнає значних змін в ході клітинного поділу. Функціонуючі хромосоми інтерфазних ядер більш розправлені і дифузні, ніж метафазні хромосоми. Хромосома як клітинна органела, що функціонує, повинна містити мінімум три типи послідовностей

ДНК, які формують центромери, теломери і ділянку початку реплікації ДНК, необхідну для подвоєння хромосоми при поділі клітин.

Кожна хромосома має одну центромеру, яку видно в світловий мікроскоп як первинну перетяжку, в якій поєднуються дві сестринські хроматиди метафазної хромосоми. Центромера необхідна для правильної сегрегації хромосом під час клітинного поділу. Хромосоми без центромери (ацентричні фрагменти) не можуть приєднуватися до ниток веретена поділу і губляться в ході поділу. У людини центромери містять особливі типи повторюваних ДНК, а також специфічні «центромерні» білки, що забезпечують сегрегацію хромосом в ході мітотичного і мейотичного поділу клітин.

Теломери хромосом є спеціалізованими структурами, що містять особливі типи ДНК і білки, які утворюють кінцеві ділянки хромосом. Теломери мають кілька функцій: 1) підтримка структурної цілісності хромосоми; 2) забезпечення повної реплікації кінцевих ділянок хромосоми; 3) підтримка тривимірної організації хромосом в інтерфазному ядрі. Теломери еукаріот містять схожі, але не ідентичні, тандемно повторювані послідовності ДНК, наприклад, TTAGGG (*Homo sapiens*), TTTAGGG (*Arabidopsis*), TAGGG (*Trypanosoma*), TTGGGG (*Paramecium*). Крім того, хромосоми містять особливі субтеломерні повтори ДНК, функція яких поки не ясна.

Інтерфазні ядра містять деконденсований слабо забарвлений хроматин (еухроматин) і конденсований темно забарвлений хроматин (гетерохроматин). В еухроматині розташована переважна більшість генів, в той час як гетерохроматин містить мало генів, які зазвичай не активні. Виділяють два типи гетерохроматину: конститутивний і факультативний. Конститутивний гетерохроматин протягом всього клітинного циклу конденсований і генетично не активний. Факультативний гетерохроматин може бути у генетично активній (деконденсованій) або неактивній (конденсованій) формі, як, наприклад, при інактивації другої хромосоми X у жінок.

Нуклеотидна послідовність ДНК в геномі людини повністю встановлена. Однак це стосується лише еухроматинових районів геному, визначити повністю послідовності гетерохроматина поки не

вдалося. Проте, основні типи ДНК гетерохроматина досить добре охарактеризовані. У складі геному людини є як унікальні послідовності ДНК, які кодують індивідуальні гени, так і численні сімейства повторюваних послідовностей ДНК, які є транскрипційно неактивними. Повторювані послідовності ДНК мають два основних типи організації: тандемно повторювані і дисперговані по геному послідовності.

В результаті мітозу утворюються дві генетично ідентичні дочірні клітини. При переході з інтерфази до мітозу хромосоми стають видимими як подовжені ниткоподібні структури. У ранній профазі кожна хромосома складається з двох сестринських хроматид і переміщується до специфічних сайтів на ядерній мембрані. У пізній профазі хромосоми стають коротшими і потовщеними, зникає ядерна мембрана і починається метафаза. У цей час можна бачити мітотичне веретено у вигляді тонких ниток, які прикріплюються до двох полярно розташованих структур, з одного боку, і до центромер метафазних хромосом, з іншого. Хромосоми розташовуються в екваторіальній площині клітини, але гомологічні хромосоми не спаровуються. У пізній метафазі при переході до стадії анафази хромосоми діляться, в тому числі і в центромерних районах. Дві хроматиди кожної хромосоми мігрують до протилежних полюсів клітини. Телофаза починається з утворення ядерної мембрани. В кінці цієї стадії також ділиться і цитоплазма. У ранній інтерфазі хромосоми втрачають свою дискретність.

Мейоз у людини характеризується перетворенням хромосом в процесі сперматогенезу у чоловіків і оогенезу у жінок. Як відомо, статеві клітини, або гамети утворюються в гонадах. У жінок цей процес називається оогенезом, а у чоловіків – сперматогенезом. Число примордіальних статевих клітин, які мігрують в гонади в ході раннього розвитку плода, збільшується в результаті мітотичних поділів. Реальне утворення статевих клітин починається в мейозі. Є ряд відмінностей в мейозі чоловіків і жінок. Основні дослідження в цій області, незважаючи на впровадження новітніх технологій, як і раніше присвячені сперматогенезу, оскільки оогенез, що починається у 3-7-

місячних ембріонів, мало доступний для аналізу. Хромосоми вступають в ранню профазу мейозу у вигляді довгих слабо спіралізованих тонких одиночних ниток (лептотена). У цьому стані гомологічні хромосоми кон'югують по своїй довжині, утворюючи бівалент (зиготена). На цій стадії формуються 23 біваленти у вигляді потовщених ниток, які мають хромомерну будову (пахітена). Мікроскопічно можна виявити роз'єднання хроматид після формування бівалентів в гомологічних хромосомах, яке відбувається з деяким запізненням. Бівалент – це структура, сформована чотири хроматидами. Потім редупліковані гомологічні хромосоми відштовхуються одна від одної (диплотена). При цьому несестринські хроматиди в біваленті можуть поєднуватися між собою в окремих точках, утворюючи хіазми. Хіазми відповідають точкам, в яких відбулися розриви і обміни ділянками гомологічних хромосом (кросинговер). Далі хромосоми входять в пізню профазу мейозу. При цьому біваленти скорочуються шляхом спіралізації (діакенез). Далі через відштовхування гомологів один від одного хіазми починають пересуватися до теломерних ділянок хромосом (процес терміналізації хіазм). В кінці профазы оболонка ядра зникає, а біваленти зі спіралізованими хромосомами переміщаються в екваторіальну область (метафаза I). Таким чином, в мейотичній метафазі I можна бачити біваленти, сформовані двома гомологічними хромосомами, а не поодинокі хромосоми, складені двома хроматидами, як відбувається в мітозі. *Важливою генетичною характеристикою першого поділу мейозу є можливі генетичні рекомбінації як наслідок кросинговеру і редукція хромосомного набору до гаплоїдного.*

Другий поділ мейозу характеризується розходженням хроматид подвоєної хромосоми і подальшим поділом клітини. Кожна дочірня клітина містить лише одну хромосому з пари і, отже, є гаплоїдною. Оскільки рекомбінація пройшла в профазі I, хромосоми гаплоїдних клітин відрізняються від набору хромосом вихідної клітини. У кожній хромосомі можна виявити рекомбінантні і нерекомбінантні ділянки. Розподіл хромосом в ході мейозу пояснює сегрегацію генетичних ознак відповідно до законів Менделя.

У процесі сперматогенезу диплоїдні сперматогонії утворюються в ході повторних мітотичних поділів клітин. В пубертатному періоді деякі з цих клітин починають диференціюватися і утворюють первинні сперматоцити, в яких відбувається перший мейотичний поділ. По його завершенню первинні сперматоцити утворюють два вторинних сперматоцита, кожен з яких має гаплоїдний набір дуплікованих хромосом. Кожна хромосома складається з двох сестринських хроматид, які поділяються в ході другого мейотичного поділу. Кожен вторинний сперматоцит ділиться і утворює дві сперматиди. Таким чином, один первинний сперматоцит утворює чотири сперматиди, кожна з яких має гаплоїдний хромосомний набір. Сперматиди диференціюються в зрілі сперматозоїди. Процес утворення зрілих сперматозоїдів з первинного сперматоцита займає 6 тижнів.

Оогенез відрізняється від сперматогенезу за часом і результатами. Статеві клітини, які мігрували в яєчники, розмножуються повторними мітотичними поділами (утворення оогоній). Ще в пренатальному періоді більшість первинних статевих клітин гине. При народженні дівчинки їх число становить приблизно 2 млн в обох яєчниках. До моменту статевого дозрівання більшість з них дегенерує і в яєчниках їх залишається близько 40 000. Приблизно 450 з них досягають стадії ооцитів II порядку і виходять з яєчника в процесі овуляції. До третього місяця життя плоду в яєчниках відзначаються тільки мітотичні поділи. Приблизно до кінця третього місяця оогонії, що знаходяться в фолікулі, починають активно рости і диференціюватися, в результаті чого кожен оогоній перетворюється в ооцит I порядку. Ооцити I порядку вступають в мейоз. Редукційний поділ мейозу в ооцитах I порядку починається в пренатальному періоді до кінця третього місяця життя плоду. Число ооцитів, що вступили в цей час в мейоз, невелике. На препаратах їх ідентифікують як лептотенні та зиготенні клітини. Починаючи з сьомого місяця в мейоз вступають нові ооцити I порядку. Перші пахітени і діплотени спостерігаються у семимісячного плода.

Ооцити I порядку вступають в профазу першого поділу мейозу, але не завершують її. Мейоз затримується в кінці профазу і клітини

вступають у фазу спокою – діктиотену. Хромосоми об'єднані в біваленти. Після народження дівчинки ооцити I порядку залишаються на цій стадії. Поділ завершується тільки після настання статевої зрілості. Від народження до настання статевої зрілості яєчник збільшується в розмірі, але лише окремі фолікули починають рости і розвиватися. Зміни, які відбуваються в організмі жінки в період статевого дозрівання, обумовлені регулюючим впливом нейрогормональної системи на статеву функцію яєчників. Кожен з декількох тисяч первинних фолікулів, розташованих в кірковій речовині яєчника, до часу статевого дозрівання складається з ооцита I порядку діаметром 25-30 мкм, оточеного одним шаром фолікулярних клітин. Ядро ооцита I порядку залишається в профазі I мейозу. Ядерце добре виражено. Хромосоми витягнуті у вигляді тонких ниток. Вони залишаються в такому вигляді, поки, через роки, не завершиться мейоз. Кожні 28 діб (або приблизно стільки) у статевозрілої невагітної жінки в яєчнику розвивається кілька фолікулів. Вони збільшуються в розмірі і наближаються до поверхні. Проте зазвичай тільки один з них дозріває, прориває поверхню яєчника і вивільняє ооцит II порядку.

Процесу овуляції передуює швидке завершення першого мейотичного поділу. В результаті утворюються дві гаплоїдні клітини. Розподіл цитоплазми між ними нерівномірний: одна з дочірніх клітин – ооцит II порядку – отримує майже всю цитоплазму материнської клітини, тоді як на частку другої – першого полярного тільця – не дістається майже нічого. Ооцит II порядку вступає в другий мейотичний поділ, але він доходить тільки до стадії метафази і зупиняється до тих пір, поки не відбудеться запліднення, що зазвичай трапляється рідко. Так як під час першого поділу мейозу число хромосом скорочується вдвічі, ооцит II порядку, а отже, і яйцеклітина мають гаплоїдний набір хромосом. Такий же набір хромосом має і перше полярне тільце. Таким чином, утворення яйцеклітин у жінок починається ще до їх народження і завершується для кожної конкретної яйцеклітини тільки після її запліднення. Ооцити знаходяться в профазі першого мейозу протягом багатьох років. Крім того, з одного диплоїдного ооцита I порядку утворюється одна зріла

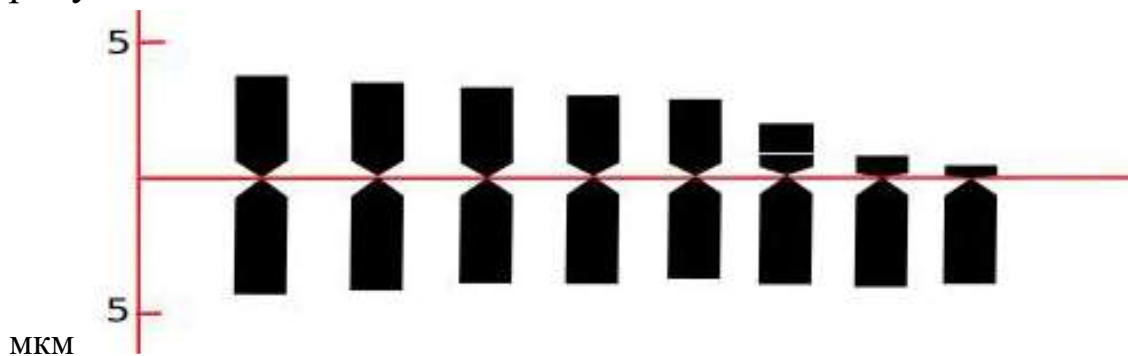
гаплоїдна яйцеклітина. Те, що тільки одна з чотирьох клітин розвивається в зрілий ооцит, а полярні тільця майже не мають цитоплазми, дає можливість ооцитам передати зиготі повний набір цитоплазматичних органоїдів і розташованих певним чином інформаційних РНК.

Питання для контролю

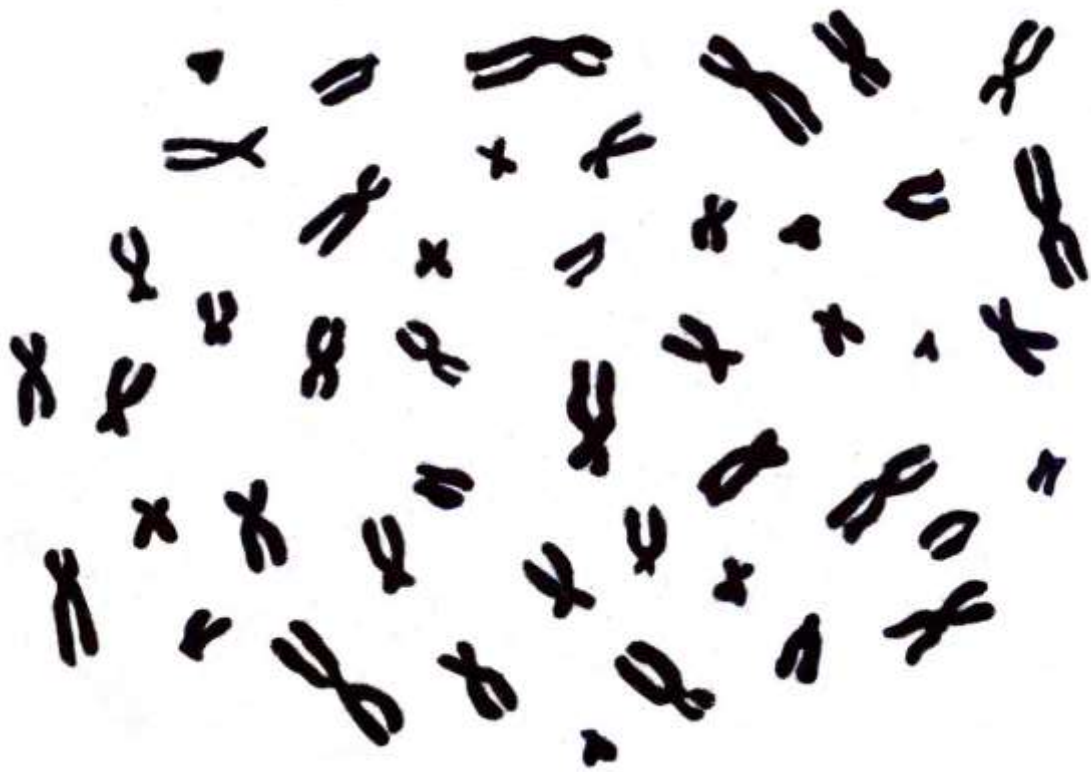
1. Скільки хромосом у людини?
2. Які принципи класифікації хромосом вам відомі?
3. Якими принципами класифікації хромосом керується Денверська система?
4. Якими принципами класифікації керується Паризька система?
5. Яка система класифікації є чинною у теперішній час?
6. Які типи хроматину у людини вам відомі?
7. Який тип мейозу у людини?
8. Назвіть особливості чоловічого та жіночого мейозу у людини.

Зразки завдань для практичних занять з теми 1

1. Вкажіть інтервали величин плечових індексів метацентричних, субметацентричних та акроцентричних хромосом з наведеного нижче рисунка.



2. Складіть ідіограми нормальних каріотипів чоловіка та жінки (за літературними джерелами).
3. Кому (чоловіку або жінці) належить зображена нижче метафазна пластинка. Розложіть хромосоми по групах: А, В, С, D, Е, F, G. Чи дозволяє даний метод забарвлення хромосом однозначно ідентифікувати хромосоми всередині груп?



3. Складіть словник цитогенетичних термінів, які можна використати для опису нормального каріотипу людини.

Тема 2. Цитогенетичні методи дослідження хромосом

Мета: ознайомити студентів з методами отримання цитологічних препаратів для дослідження хромосом людини, а також з методами фарбування хромосом, перевагами і недоліками цих методів

Теоретичні питання

1. Способи отримання клітин, що діляться.
2. Тканини з високим мітотичним індексом.
3. Клітинні культури.
4. Обробки для підвищення мітотичного індексу та посилення конденсації хромосом.
5. Методи підвищення роздільної здатності цитогенетичного дослідження.
6. Методи приготування препаратів.
7. Рутинне забарвлення хромосом.
8. Методи диференційного забарвлення хромосом (Q-, G-, C-, R-, T-забарвлення).
9. Методи дослідження ядерцевого організатора, сестринських хроматидних обмінів.

Опорні відомості для опрацювання теоретичних питань

Головна умова цитогенетичної діагностики – виявлення клітин, що діляться. Кістковий мозок, тканини сім'яника і хоріон мають достатній мітотичний індекс, щоб використовувати ці об'єкти для цитогенетичних обстежень. Однак накопичений досвід вказує, що клітинні культури набагато інформативніше: клітини звільнені від елементів з'єднувальної тканини і добре утворюють суспензію. Мітотичний індекс в культурі клітин набагато вищий. Культури клітин можна отримати зі шматків шкіри (фібробласти), кісткового мозку, ембріональних тканин, хоріона, клітин амніотичної рідини. Найбільш зручною виявилася культура лімфоцитів периферичної крові. Для її отримання достатньо додати 1-2 мл венозної крові в суміш живильного середовища з фітогемаглютиніном, який активує

імунологічну трансформацію лімфоцитів та їх поділ. Тривалість культивування складає 48-72 год.

Другою умовою цитогенетичних досліджень є використання колцеміду (або колхіцину), який руйнує веретено поділу і зупиняє клітинний поділ на стадії метафази. Обробку проводять за 2-3 год до закінчення культивування. За цей час мітотичний індекс підвищується в 2-3 рази. Додатковою дією є посилення конденсації хромосом.

В тих випадках, коли потрібний аналіз певного району хромосоми, сильно конденсовані метафазні хромосоми (звідси і назва методу – метафазний) непридатні для аналізу. В таких випадках клітину фіксують на стадії прометафази. Незважаючи на багато накладень і погану пластинку в цілому, серед багатьох клітин можна знайти такі, де є ділянка, необхідна для аналізу.

Наступною умовою для отримання гарних препаратів є гіпотонічний шок. Звичайно для цієї мети використовують гіпотонічний розчин хлориду кальцію або цитрату натрію. Клітини при цьому набухають, ядерна оболонка лопається і хромосоми вільно плавають в цитоплазмі.

Клітинну суспензію фіксують сумішшю метанолу і оцтової кислоти (3:1), потім суспензію центрифугують і міняють фіксатор. В такому стані при 4 °C суспензія може зберігатися протягом декількох тижнів. Препарати готують розкапуванням на чисте предметне скло.

В залежності від мети дослідження препарати готують з клітин хоріону, кісткового мозку, сім'яників, культури фібробластів, культури амніоцитів. Процедури дещо відрізняються від культури лімфоцитів, але основні етапи ті ж самі.

Наступний етап – забарвлення препаратів. Ці методи можна поділити на три групи: прості, диференціальні, флуоресцентні.

Найбільш розповсюджений метод – рутинне забарвлення. Він дає можливість лише групової ідентифікації хромосом. Структурні хромосомні аномалії мають ідентифікуватися за допомогою диференціального забарвлення. Рутинне забарвлення широко застосовується для вивчення хромосомного мутагенезу (облік

хромосомних аберацій) при перевірці факторів докіль на мутагенність. За допомогою цього методу були відкриті основні хромосомні хвороби, показана роль хромосомних аномалій при спонтанних абортах, вроджених вадах розвитку і канцерогенезі, розроблені принципи біологічної дозиметрії опромінення.

У теперішній час у практиці хромосомного аналізу широко використовуються методи диференціального забарвлення і молекулярно-цитогенетичні методи. Вперше метод диференціального забарвлення хромосом був запропонований Касперссоном, який показав, що при обробці препаратів мітотичних хромосом за допомогою акрихін-іприту у флуоресцентному мікроскопі видна смугастість по довжині хромосом. У хромосомах були видні поперечні **смуги, які світяться** (Q-забарвлення), розташування їх було характерно для кожної хромосоми.

Потім з'ясували, що диференційно забарвлювати хромосоми по довжині можна за допомогою нефлуоресціюючих барвників. Перед фарбуванням препарати обробляють різними способами (**коротка обробка трипсином, лужними або кислими розчинами й ін.**). Залежно від методу фарбування можна виявити фарбування прицентромерних ділянок (C-забарвлення) або інтеркалярні смуги в плечах і в теломерах хромосом (G-смуги). Як і при фарбуванні акрихін-іпритом, розташування смуг характерно для кожної хромосоми.

Диференціальне забарвлення дозволило детально вивчити будову хромосом людини і чітко відрізнити хромосоми всередині груп друг від друга. Здатність окремих ділянок хромосом до фарбування зв'язують з їхніми хімічними відмінностями. Велика кількість спостережень говорить про те, що вибіркоче фарбування пов'язане з локалізацією гетерохроматину, ДНК якого збагачена А- і Т-основами.

При G-забарвленні темні смуги (G-сегменти) утворюються в місцях локалізації інтерстеціального гетерохроматину. Такі ділянки багаті А-Т-парами і практично не містять повторів ДНК. У прометафазі, коли хромосоми ще не повністю конденсовані, у хромосомах людини налічується до 2000 смуг, в інших випадках –

400-800 смуг. Метод дозволяє ідентифікувати хромосоми, виявляти делеції, інверсії, інсерції, транслокації, фрагільні сайти тощо. Фарбуванню по G-методу передують попередня обробка препаратів. Залежно від методики це може бути інкубація в буферах, що не містять Ca^{2+} і Mg^{2+} , при $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ або $t = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$; інкубація в розчинах протеолітичних ферментів (трипсин, пепсин і ін.); інкубація з депротеїнізуючими речовинами (сечовина, 2-меркаптоетанол); інкубація в стандартному сольовому розчині (SSC) під впливом лугу та високої температури. Найпоширенішим є GTG-метод (попередня обробка трипсином, фарбування барвником Гімзи). Вплив трипсину забезпечує перехід регулярної спіралеподібної структури в нерегулярну сегментацію, що перешкоджає сприйняттю барвника Гімзи в G-негативних ділянках і підсилює його в G-позитивних сегментах хромосом.

R-забарвлення дозволяє одержати поперечну смугастість хромосом, зворотну такої при G-забарвленні (тобто темним G-смугам відповідають світлі R-смуги й навпаки). Препарати, отримані при R-забарвленні, аналізують, використовуючи фазово-контрастну мікроскопію. Для одержання R-смугастості хромосом для попередньої обробки використовують збалансований сольовий розчин Ерла при $t = 78\text{-}96\text{ }^{\circ}\text{C}$, а також при певних значеннях рН і часі експозиції, які варіюють у різних методиках. Підготовка препаратів складніше, ніж при G-забарвленні, оскільки нерідко використовують попередню обробку $\text{Ba}(\text{OH})_2$ при $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ або NaOH і формальдегідом.

Якщо проводити фарбування R-методом при більш низьких значеннях рН розчинів і з подовженням експозиції, забарвляться тільки теломерні райони (*T - метод*).

Q-забарвлення хромосом одержують, використовуючи флуорохроми, які, збуджуючись синьо-фіолетовим світлом, імітують червоне, жовте й жовтогаряче світіння. З барвників раніше використовували акрихін, але більш якісні препарати виходять при фарбуванні акрихін-іпритом або акрихін-пропілом. Трохи гірший результат одержують при використанні похідного бібензimidазолу Hoechst 33258. Сильно флуоресціюючі ділянки хромосом

відповідають темним G-дискам; відмінність полягає в тому, що у людини вторинні перетяжки хромосом 1 і 16 забарвлюються тільки по G-методу, а інтенсивність фарбування сегментів хромосом 3, 4, 13-15, 21-22 і Y слабше при використанні Q-методу.

Якщо препарат помістити ненадовго в луг, а потім на тривалий час залишити в розчині SSC при $t = 60-65^{\circ}\text{C}$, забарвиться лише структурний хроматин центромерних районів. Цей підхід, що одержав назву *C-методу*, дозволяє виявляти конститутивний гетерохроматин і використовується для виявлення перичентричних інверсій.

Для виявлення ядерцеутворюючих районів, які розташовані в коротких плечах усіх десяти акроцентричних хромосом, застосовують метод, заснований на використанні нітрату срібла та проведенні процедури сріблення при нагріванні. Це так зване *Ag-AS-фарбування*. На вдаєх препаратах хромосоми забарвлені у жовтий колір. У коротких плечах акроцентричних хромосом чітко виявляються темно-коричневі або чорні точкові утворення гранул срібла. Хоча тонкі механізми забарвлення ядерцеутворюючих районів хромосом поки не відомі, проте встановлено, що субстратом при Ag-фарбуванні є не ДНК рибосомних генів і не рРНК, а кислі білки, що входять в структуру ядерця і пов'язані з рРНК. Тому метод сріблення дозволяє виявити не будь-який ядерцевий організатор, а лише той, що функціонує в попередній мітозу інтерфазі, а інтенсивність їх фарбування відповідає інтенсивності функціонування.

Для ідентифікації хромосом використовують одну з найважливіших характеристик хромосом людини – асинхронність їх реплікації по довжині. «Малюнки» послідовності реплікації (ділянки, що реплікуються рано чи пізно) специфічні для кожної хромосоми. Для виявлення послідовності реплікації застосовують аналог тимідину – 5-бромдезоксіурідін (5-БДУ). Ділянки хромосоми, які включають цей аналог, забарвлюються погано. Використовуючи цей метод, можна ідентифікувати будь-яку хромосому або хромосомну перебудову. Введення 5-БДУ в культуру на 24 год. і більше застосовують для диференціального забарвлення сестринських

хроматид. Якщо 5-БДУ ввести на повний клітинний цикл, то знов утворювана хроматида включить аналог тимідину і буде забарвлюватися слабо. Інша хроматида (стара), забарвлюється, як звичайно, інтенсивно. Цей метод дозволяє легко виявляти обміни між сестринськими хроматидами (СХО), кількість яких збільшується при мутагенних діях. Тому *метод обліку СХО* широко застосовується при вивченні мутаційного процесу у людини.

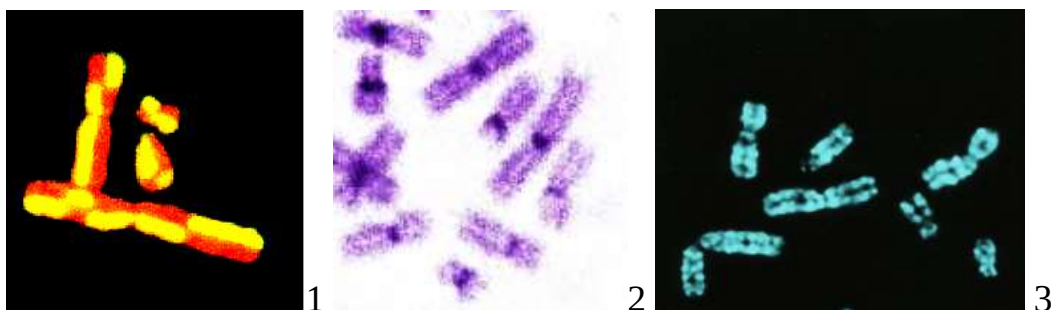
Поява нових технологій, заснованих переважно на *in situ* гібридизації нуклеїнових кислот, значно розширила можливості вивчення каріотипу.

Питання для контролю

1. Які тканини використовують для каріотипування людини?
2. Чому лімфоцити периферичної крові є найзручнішим матеріалом для каріотипування?
3. Які методи приготування цитологічних препаратів для каріотипування вам відомі?
4. Які додаткові процедури використовують для диференційного забарвлення хромосом?
5. Яких заходів з техніки безпеки слід дотримуватися у цитологічній лабораторії?

Зразки завдань для практичних занять з теми 2

По наведеним нижче мікрофотографіям визначити типи забарвлення хромосом і описати методичний протокол.



Тема 3. Молекулярно-цитогенетичні методи дослідження хромосом

Мета: ознайомити студентів з молекулярно-цитогенетичними методами дослідження хромосом, призначенням цих методів, межами їх застосування та порівняти їх можливості з цитогенетичними методами

Теоретичні питання

1. Метод флуоресцентної *in situ* гібридизації (FISH).
2. Типи зондів для FISH.
3. Багатобарвна сегментація хромосом.
4. Метод порівняльної геномної гібридизації (CGH).
5. Спектральне каріотипування (SKY).
6. Каріотипування зі зміною кольору.
7. Интерфазова цитогенетика.

Опорні відомості для опрацювання теоретичних питань

Метод флуоресцентної *in situ* гібридизації (FISH) розроблено для виявлення певних послідовностей ДНК безпосередньо на цитологічних препаратах. Він дозволив перейти від вивчення морфології хромосом до аналізу послідовностей ДНК, що входять до їхнього складу. В основі методу – реакція гібридизації між ДНК-зондом (нуклеотидною послідовністю обмеженого розміру) і комплементарною йому ділянкою ядерної ДНК досліджуваного препарату. Зонд несе «мітку», тобто містить нуклеотиди, пов'язані з флуорохромом або з гаптенем для подальшої візуалізації антитілами, що несуть флуорохром. Незв'язана мічена ДНК відмивається, а гібридизований ДНК-зонд виявляють з використанням флуоресцентного мікроскопа.

Уперше *in situ* гібридизація з ^{32}P -міченим зондом була описана в 1969 році. Удосконалення методів мічення ДНК-зондів, проведення гібридизації та детекції міченої ДНК на цитологічних препаратах дозволило перейти від аналізу розподілу в хромосомах кластеризованих повторів до локалізації унікальних послідовностей. Розробка нерадіоактивних систем мічення та детекції ДНК-зондів

зробила метод *in situ* гібридизації безпечним, простим у виконанні та менш трудомістким при обробці результатів. Розвиток технологій цифрового запису мікроскопічних зображень і їх комп'ютерна обробка привели до створення принципово нових підходів до візуалізації та ідентифікації хромосомного матеріалу. У теперішній сучасній молекулярній цитогенетиці широко використовують:

- ідентифікацію протяжних хромосомних районів і цілих хромосом;
- детекцію в районі, що цікавить, конкретної послідовності ДНК;
- аналіз порушення балансу окремих хромосомних районів.

Хромосома-специфічні та район-специфічні ДНК-зонди є визначальною ланкою при проведенні FISH. ДНК-зонди до центромер (CER – *centromeric probe*) призначені для ідентифікації центромерних регіонів хромосом і виявлення кількісних порушень каріотипу як в інтерфазі, так і в метафазі. Вони містять відносно короткі нуклеотидні послідовності, комплементарні численним хромосома-специфічним α -сателітним ДНК-повторам, локалізованим у центромері. Пан-центромерні зонди дозволяють виявити одночасно центромерні регіони всіх хромосом і використовуються для детекції анеуплоїдії, поліплоїдії, дицентричних хромосом та інших комплексних аберацій.

ДНК-зонди до теломерних ділянок хромосом (TEL – *telomeric probe*) призначені для виявлення делецій і перебудов, які відбулися у кінцевих ділянках хромосом. Такі зонди специфічні для р- або q-плечей хромосом і комплементарні ділянці довжиною близько 300 т. п. н. від кінця хромосоми. Як правило, ДНК-зонди для коротких і довгих плечей хромосом пов'язані з різними флуорохромами, що дозволяє виявляти на одному **цитогенетичному** препараті обидві теломери хромосоми. Локус-специфічні ДНК-зонди (LSI – *locus-specific identifiers*) гібридизуються з унікальними послідовностями ДНК. Вони призначені для виявлення діагностично та прогностично значущих хромосомних аберацій при різних патологічних станах.

Цифровий запис мікрозображень відкрив можливість переведення у псевдокольори не тільки комбінації флуорохромів, але й співвідношення їх інтенсивностей. На цій основі розроблений

метод *багатобарвної сегментації хромосом* (Multicolor Banding – MCB). Він призначений для проведення детального аналізу окремої хромосоми. Район-специфічні проби ДНК мітять різними флуорохромами або комбінаціями флуорохромів так, що рівень сигналу кожного із ДНК-зондів варіює по інтенсивності, досягаючи максимуму в центрі та поступово падаючи практично до нуля на його границях. Перекривання профілів інтенсивності сигналів ДНК-проб забезпечує варіації співвідношень інтенсивностей флуоресценцій різних флуорохромів уздовж хромосоми. Відношення інтенсивностей можуть бути переведені в псевдокольори, і, таким чином, кожній крапці зображення, а, отже, кожному із хромосомних районів, буде відповідати свій псевдоколір. Даний варіант багатобарвної FISH виявився високоефективним при аналізі не тільки міжхромосомних, але й внутрішньохромосомних перебудов.

Метод порівняльної *геномної гібридизації* (Comparative Genome Hybridization – CGH) створений для виявлення кількісних порушень у геномі. Він заснований на проведенні реакції гібридизації *in situ* з використанням у якості ДНК-зонда всього геному. Виділену нормальну донорську ДНК мітять флуорохромами різного кольору, перетворюючи її в такий спосіб у ДНК-зонди. Еквівалентні кількості цих зондів змішують і використовують при гібридизації з контрольним цитогенетичним препаратом. Після проведення FISH метафази аналізують на флуоресцентному мікроскопі, визначаючи за допомогою спеціалізованої програми комп'ютерного аналізу зображення інтенсивність флуоресценції двох флуорохромів по всій довжині кожної хромосоми. При відсутності кількісних змін у каріотипі досліджуваного зразка буде спостерігатися певне співвідношення інтенсивності світіння двох флуорохромів. У випадку ампліфікації генів інтенсивність сигналу відповідного флуорохрома буде підсилюватися, а у випадку втрати частини генетичного матеріалу – слабшати. Таким чином, CGH дозволяє виявити геномний дисбаланс, але цей метод не можна використовувати для виявлення збалансованих транслокацій і інверсій, а трисомії та

делеції можна визначити тільки в тому випадку, якщо розмір незбалансованої ділянки становить не менш 10 млн. пар нуклеотидів.

Багатобарвне каріотипування широко застосовують для визначення походження маркерних хромосом, які часто спостерігаються при онкогематологічних захворюваннях. Для такого аналізу використовують ДНК-зонди суцільного фарбування до плечей або цілих хромосом (зонди WCP – *whole chromosome paint*). Такі зонди гібридизуються з численними короткими послідовностями ДНК, розташованими по всій довжині хромосоми. При вивченні під флуоресцентним мікроскопом хромосома виглядає рівномірно забарвленою в певний колір. Техніка суцільного фарбування хромосом стала передумовою для нового способу дослідження каріотипу – багатобарвного каріотипування. ДНК-зонди, використовувані для такого аналізу, складаються із суміші зондів суцільного фарбування для повного набору хромосом людини, позначених за допомогою комбінації з декількох флуорохромів, співвідношення яких підібрано індивідуально для кожної пари хромосом. Використання відповідних методів реєстрації та комп'ютерних програм аналізу зображення, що оцінюють інтенсивність світіння всіх флуорохромів для кожної крапки зображення, дозволяє провести каріотипування, за якого кожна пара хромосом має свій унікальний «псевдоколір». Одночасне використання n флуорохромів дозволяє одночасно аналізувати 2^{n-1} ДНК-зондів.

У теперішній час використовують два основні способи одержання псевдо-багатокольорових зображень. У найпростішому варіанті використовують набори специфічних комбінацій збуджуючих і замикаючих фільтрів та обладнання для чорно-білої цифрової реєстрації сигналу. Однак сучасна техніка здатна забезпечити реєстрацію не тільки інтенсивності сигналу, але і його спектральних характеристик. Таке приладове оснащення лежить в основі спектрального каріотипування.

Основні принципи аналізу мікроскопічних зображень при *спектральному каріотипуванні* (SKY – *spectral karyotyping*) полягають в роздільній цифровій реєстрації сигналу всіх використовуваних флуорохромів. Обробка записаної інформації,

пов'язаної з розділенням сигналу та фону, а також з кількісною оцінкою сигналу, проводиться за допомогою спеціального програмного забезпечення, яке переводить інформацію про рівень сигналів флуорохромів у кожній крапці зображення в псевдокольори. Реєстрація зображення вимагає точного опису спектральних характеристик об'єкта. У ході одного виміру одержують спектральні криві для всіх крапок зображення. Для спектрального каріотипування всіх хромосом людини використовують п'ять флуорохромів: один у зеленому спектрі, два в червоному і два в інфрачервоному. Збудження та емісія всіх флуорохромів, використовуваних при міченні ДНК-зондів, проходить при одному комплекті фільтрів. В одній експозиції одночасно для кожної крапки зображення записується повна спектральна характеристика світла, що випускається. На основі аналізу спектральних кривих визначається наявність або відсутність у даній крапці конкретних флуорохромів. Наступним кроком є процедура класифікації, виконувана за допомогою спеціального програмного забезпечення, що дозволяє визначати хромосомну приналежність аналізованого матеріалу. Класичні методи цитогенетичного аналізу дозволяють виявляти лише близько 15 % хромосомних перебудов з тих, що можна ідентифікувати за допомогою SKY.

Каріотипування зі зміною кольору (Color-changing karyotyping) у теперішній час пропонується як альтернатива SKY. Метод заснований на аналізі відмінності в довжині сигналу між зразками ДНК, гібридизованими із ДНК-зондами, пов'язаними з флуорохромами, і з ДНК-зондами, що несуть антитіла. Цей метод здійснимий при наявності 3 фільтрів і не вимагає спеціальних камер і програмного забезпечення. Для ідентифікації хромосом проводять одну гібридизацію та одержують два зображення. В основі методу лежить відмінність у довжині флуоресцентного сигналу, оскільки час експозиції проб ДНК, зв'язаних з антитілами, на 80-90 % менше, ніж проб, зв'язаних з флуорохромами. Після реакції гібридизації мазки експонують із відповідними первинними антитілами і проводять візуалізацію, одержуючи перший знімок. Потім препарати

експонують із вторинними антитілами та авідином, зв'язаними з тими ж флуорохромами. Надалі знову одержують знімки препаратів, використовуючи по черзі 3 фільтри. Ці зображення зіставляють, використовуючи спеціальне програмне забезпечення, і одержують другий знімок, на якому будуть видні тільки хромосоми, зв'язані з певними антитілами. Таким чином, деякі хромосоми будуть флуоресціювати лише на першому або другому знімку, в той час як інші будуть змінювати свій колір на різних знімках.

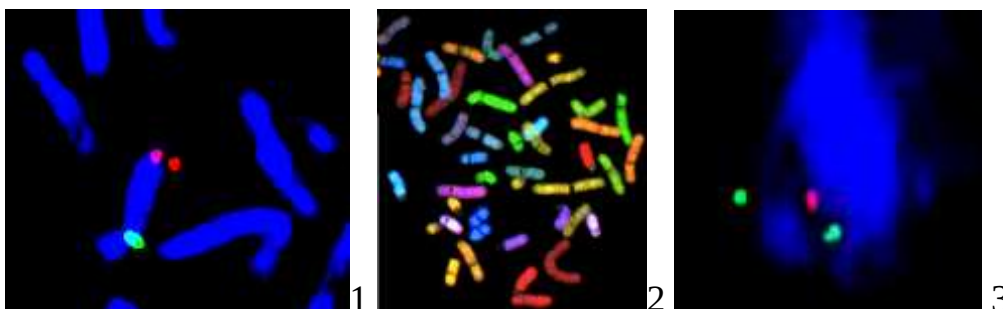
Інтерфазова цитогенетика дозволяє проводити аналіз хромосом на стадії інтерфази, коли вони деспіралізовані, оскільки гібридизація *in situ* здійснюється незалежно від фази клітинного циклу. Цей підхід до вивчення каріотипу дає можливість об'єктивно оцінити розміри клону клітин, що несуть хромосомну аберацію, оскільки для вивчення стають доступні клітинні популяції в цілому.

Питання для контролю

1. Як конструюють зонди для FISH?
2. Що використовують у якості зонду для CGH?
3. Які нові можливості діагностики надає багатобарвна сегментація хромосом?
4. Які нові можливості діагностики надає метод SKY?
5. Які нові можливості діагностики надає каріотипування зі зміною кольору?
6. Які нові можливості діагностики надає інтерфазова цитогенетика?

Зразки завдань для практичних занять з теми 3

По наведеним нижче мікрофотографіям визначити типи забарвлення хромосом і описати методичний протокол.



Тема 4. Хромосомні аномалії та синдроми

Мета: сформувати у студентів уявлення про зв'язок між мінливістю каріотипу і формуванням нормального фенотипу або патології

Теоретичні питання

1. Аномалії аутосом.
2. Аномалії гоносом.
3. Триплоїдія.
4. Тетраплоїдія.
5. Маркерні хромосоми та мозаїчні форми хромосомних синдромів.
6. Аномалії теломерних та субтеломерних ділянок.
7. Однобатьківська дисомія.
8. Геномний імпринтинг.
9. Цитогенетична та молекулярно-цитогенетична діагностика в репродуктивній медицині.
10. Використання цитогенетичних методів у діагностиці моногенних синдромів.

Опорні відомості для опрацювання теоретичних питань

Аномалії аутосом

Хромосоми групи А

Хромосома 1 – найбільша метацентрична хромосома в каріотипі. Повні трисомії і моносомії хромосоми 1 несумісні з життям і ведуть до спонтанних абортів на ранніх термінах вагітності. Відомі випадки часткових трисомії і моносомії по довгому і короткому плечу, а також випадки кільцевих хромосом. У всіх випадках спостерігається клінічний поліморфізм. Виявлено поліморфізм за розмірами біляцентромерного гетерохроматину у дітей з вродженими вадами розвитку (ВВР) і затримкою психомоторного розвитку.

Хромосома 2 – велика субметацентрична хромосома. Повна трисомія по цій хромосомі веде до спонтанних абортів на ранніх

стадіях розвитку плоду. В даний час клінічно виділені синдроми часткової трисомії короткого і довгого плечей хромосоми 2.

Хромосома 3 – велика метацентрична хромосома. Регулярна трисомія даної хромосоми у живонароджених дітей не знайдена, але описана у спонтанних абортусів у менш ніж 1 % випадків. Відомі хромосомні аномалії, пов'язані з частковими трисоміями короткого і довгого плеча хромосоми 3, а також з кільцевими хромосомами – г (3).

Хромосоми групи В

Хромосома 4 – велика субметацентрична хромосома. Моносомія короткого плеча (синдром Вольфа-Хіршхорна) зустрічається з частотою 1 на 100 000. Клінічно виявляють типову для більшості аутосомних делецій картину, а цитогенетично – втрату частини матеріалу короткого плеча, критичним сегментом для виникнення синдрому є 4p16. Довжина втраченого сегмента зазвичай становить близько половини довжини короткого плеча хромосоми 4. Випадки делеції довгого плеча хромосоми 4 зустрічаються рідко. Відомі поодинокі випадки кільцевої хромосоми 4. Точки розриву при формуванні кільця розташовані в термінальній частини хромосоми 4. Часткова трисомія короткого плеча хромосоми 4 може зачіпати ділянку p11→pter. Часткова трисомія довгого плеча хромосоми 4 – найбільш поширена форма подібних трисомій, захоплює ділянку q12→qter.

Хромосома 5 – одна з великих субметацентричних хромосом, відрізняється від хромосоми 4 лише за допомогою диференційного фарбування. В даний час можна упевнено казати про строго клінічно окреслений синдром – «крику кішки» (моносомія по короткому плечу і кільцева хромосома 5). Синдром пов'язаний зі змінами гортані (звуження, м'якість хрящів, набряклість або незвичайна складчастість слизової, зменшення надгортанника), зустрічається частіше за інших синдромів, пов'язаних з делеціями аутосом – 1 на 45000 народжень. Цитогенетично має виражений поліморфізм: від втрати третини до половини довжини короткого плеча хромосоми 5. Втрати всього короткого плеча або невеликого його фрагмента зустрічаються рідко.

Клінічна картина синдрому пов'язана з невеликою ділянкою – 5p15.1-p15.2. Описані випадки делеції довгого плеча хромосоми 5 з затримкою психомоторного розвитку та ВВР, захоплюючих ділянки q13→q15→q23→q31. Відомі поодинокі випадки кільцевої хромосоми 5. Точки розриву розташовані в сегментах 5p15 і 5q35. У переважній більшості випадків кільцевої хромосоми 5 спостерігають клінічну картину синдрому «крику кішки». Трисомія дистальних сегментів (5p14→pter) характеризується поєднанням затримки розумового розвитку і ожиріння, при цьому зустрічаються неспецифічні дисплазії обличчя і вушних раковин. Відомі часткові трисомії хромосоми 5.

Хромосоми групи C

Хромосома 6 – середньої величини субметацентрична хромосома, найбільша в групі, ідентифікувати її можна тільки методами диференційного фарбування. Відомі часткові моносомії і трисомії хромосоми 6, а також кільцеві хромосоми – r (6).

Хромосома 7 – субметацентрична хромосома середніх розмірів. Ідентифікується тільки методами диференційного фарбування. Відомі випадки часткових моносомії та трисомії, кільцевих хромосом 7, а також випадки повної трисомії хромосоми 7.

Хромосома 8 – середньої величини субметацентрична хромосома в каріотипі людини, одна з великих хромосом групи. Ідентифікувати можна тільки методами диференційного фарбування. Відомі випадки інтерстиціальних і термінальних делецій довгого плеча, які захоплюють ділянки q13→q22 і q24→qter, відповідно. Відомі випадки кільцевої хромосоми 8 – r (8) з точками розриву в ділянках p23 і q24 та випадки часткової дуплікації (трисомії) по короткому плечу, яка захоплює ділянки p12→p23→pter. Є описи часткової трисомії довгого плеча (ділянки q11→q21-22-23→qter), а також повна трисомія 8. При трисомії 8 переважають мозаїчні форми на відміну від інших аутосомних трисомій, де зустрічаються повні форми захворювання. Популяційна частота трисомії 8 точно не відома, серед хворих частіше зустрічаються хлопчики (співвідношення осіб чоловічої і жіночої статі – 5 : 2).

Хромосома 9 – субметацентрична, середніх розмірів. У довгому плечі досить часто близько центромери виявляють вторинну перетяжку. При С-фарбуванні виявляють великий блок прицентромерного гетерохроматину. Відзначають поліморфізм за величиною цього гетерохроматинового прицентромерного фрагмента, також в цій ділянці часто зустрічаються перичентричні інверсії. Патологічне значення поліморфізму гетерохроматинового блоку не з'ясовано. За допомогою сучасних технологій величину блоку можна оцінити якісно і кількісно. Відомо, що збільшені і зменшені С-блоки успадковуються кодомінантно і сегрегують у родині. Члени таких родин складають групи ризику по народженню дітей з затримкою психомоторного розвитку, множинними ВВР та / або мікроаномаліями розвитку, а також з порушеннями репродуктивної функції. Відомі описи повних і часткових трисомій, кільцевих хромосом, часткових моносомій, а також тетрасомій.

Хромосома 10 – середніх розмірів субметацентрична хромосома, ідентифікується тільки методами диференційного фарбування. Відомі випадки часткових трисомії і моносомії, а також кільцевих хромосом. Повна трисомія хромосоми 10 зустрічається тільки в матеріалах спонтанних абортусів і надзвичайно рідко – мозаїчні форми.

Хромосома 11 – субметацентрична середніх розмірів хромосома, ідентифікується за допомогою методів диференційного фарбування. Відомі часткові трисомії і моносомії хромосоми 11, а також кільцеві хромосоми. Моносомія короткого плеча характеризується тріадою ознак: аніридія, псевдогермафродитизм і нефробластома (пухлина Вілмса). Частота в популяції 1 випадок на 50000 народжень дітей. Затримка росту і помірна гіпоплазія, а також відставання в розумовому розвитку (важкі форми не характерні) є постійними ознаками синдрому. У хворих є ряд черепно-лицевих аномалій, головним чином, неспецифічних для цього синдрому.

Хромосома 12 – середньої величини, субметацентрична хромосома. Ідентифікується виключно методами диференційного фарбування хромосом. Відомі випадки часткових моносомії, трисомії,

тетрасомії (в основному, мозаїчних форм), а також кільцевих хромосом.

Хромосоми групи D

До групи D відносяться середніх розмірів акроцентричні хромосоми 13, 14, 15. Їх короткі плечі складаються з гетерохроматинового блоку, вторинної перетяжки і супутників. Досить часто ці райони виявляють поліморфізм по довжині. Хромосоми групи D часто залучені до транслокації одна з одною або з хромосомами групи G (21 і 22). В результаті робертсонівських транслокацій з двох, практично одноплечих, акроцентричних утворюється одна двоплеча субметацентрична або метацентрична хромосома. Короткі плечі втрачаються, що, як правило, не відбивається на фенотипі. Досить часто збалансовані робертсонівські транслокації спостерігають у фенотипово нормальних людей. Трисомії коротких плечей також не мають клінічних проявів. Відомі часткові моносомії і трисомії довгих плечей, повні трисомії, а також кільцеві хромосоми групи D.

Хромосома 13 – акроцентрична середніх розмірів, найбільш повно клініко-цитогенетично вивчена. Описано часткові моносомії і трисомії довгого плеча, кільцеві хромосоми – r (13), а також синдром Патау, що став класичним – повна трисомія 13. Частота народження в популяції – 1 на 6000-13000 народжень, співвідношення статей 1 : 1, середній вік батьків: матерів – 32 роки, батьків – 34.

Хромосома 14 – акроцентрична хромосома, її розміри менші середніх порівняно з іншими аутосомами. Відомі нечисленні описи часткових моносомії і трисомії по довгих плечах, а також кільцевих хромосом. Випадки повної трисомії 14 зустрічаються тільки в матеріалах спонтанних абортусів, отже при аномаліях цієї хромосоми вади розвитку несумісні навіть з внутрішньоутробним життям. У живонароджених дітей зустрічаються тільки мозаїчні форми повної трисомії 14.

Хромосома 15 – акроцентрична хромосома, нижче середньої величини в каріотипі. Повна трисомія хромосоми 15 несумісна з

життям. Відомі часткові трисомії і моносомії довгого плеча, а також кільцеві хромосоми.

Хромосоми групи E

Хромосома 16 – метацентрична хромосома з вторинною перетяжкою в довгому плечі. У довгому ж плечі є великий блок прицентромерного гетерохроматину, дуже поліморфний як в нормальній популяції, так і серед розумово відсталих дітей з ВВР та / або мікроаномаліями розвитку. У останніх збільшення блоку зустрічається в 4-5 разів частіше, ніж в популяції. Аномалії хромосоми 16 дуже рідкі у живонароджених дітей, натомість частіше зустрічаються у спонтанних абортусів, що вказує на несумісність вад з життям при аномаліях хромосоми 16. Відомі часткові моносомії довгого плеча, часткові трисомії за коротким і довгим плечима, а також кільцеві хромосоми. Повна трисомія 16 зустрічається лише у спонтанних абортусів.

Хромосома 17 – субметацентрична хромосома, менше середнього розміру. Відомі випадки часткових моносомії і трисомії довгих і коротких плечей, а також кільцевих хромосом 17.

Хромосома 18 – субметацентрична хромосома, невелика у порівнянні з іншими хромосомами в каріотипі людини. Є повідомлення про часткові моносомію і трисомію коротких і довгих плечей, тетрасомії коротких пліч, а також про кільцеві хромосоми і повну трисомію. Повну трисомію-18 назвали синдромом Едвардса. Частота захворювання в популяції – 1 випадок на 7000 народжень. Дівчатка хворіють значно частіше хлопчиків.

Хромосоми групи F

Хромосома 19 – одна з невеликих метацентричних хромосом в каріотипі людини. Аномалій по хромосомі 19 описано мало. Відомі окремі випадки кільцевих хромосом і часткової трисомії довгого плеча хромосоми 19.

Хромосома 20 – маленька метацентрична хромосома. Відомі поодинокі повідомлення про часткові моносомії і трисомії хромосоми 20, а також про кільцеві хромосоми. Зустрічаються повідомлення про

повну трисомію-20 в мозаїчній формі та тільки в пренатальний період розвитку. Аномальний каріотип виявлений в клітинах плода.

Хромосоми групи G

Хромосома 21 – найменша в каріотипі людини. Відомі часткові і повні моносомії, трисомії та тетрасомії по довгому плечу хромосоми 21. Трисомія-21 (синдром Дауна) – перший клінічно і цитогенетично описаний хромосомний синдром, який часто зустрічається. Частота синдрому Дауна в середньому 1 випадок на 800-1000 живонароджених дітей. Існує три цитогенетичні форми синдрому: регулярна трисомія (93 % всіх випадків), транслокаційна (5 %) і мозаїчна (2 %) трисомії. Критичний сегмент, який відповідає за фенотипові прояви синдрому Дауна, розташований в ділянці 21q22, при трисомії якого розвивається типова клінічна картина.

Хромосома 22 – маленька акроцентрична аутосома в каріотипі людини. Відомі часткові і повні моносомії і трисомії, а також кільцеві хромосоми. Синдром трисомії-22 названий синдромом «котячого ока» через вертикальну локалізацію колобоми райдужки у цих хворих, яка створює враження котячих очей. Синдром «котячого ока» зустрічається рідко, частота його досі не визначена. Частіше зустрічаються мозаїчні форми захворювання, коли нерозходження хромосом відбувається в мітозі, а не в мейозі.

Аномалії статевих хромосом (гоносом)

В основному ці синдроми пов'язані з чисельними порушеннями хромосом X і Y (повними моносоміями, трисоміями, дисоміями), а також структурними змінами гоносом (без участі аутосом), в т. ч. й ізохромосомами. При цьому клінічно спостерігають ознаки, характерні для відомих гоносомних синдромів: Шерешевського-Тернера, Клайнфельтера, трисомії X, дисомії Y.

Хромосома X – статеві субметацентрична хромосома, згідно з розмірами записана в групу C. Відомі моносомія (синдром Шерешевського-Тернера) і полісомія хромосоми X у дівчаток. Синдром Шерешевського-Тернера – найбільш вивчене хромосомне захворювання. За останніми даними частота синдрому коливається

від 0,1 до 0,4 на 1000. При структурних аномаліях хромосоми X (ізохромосома, делеції короткого і довгого плеча, кільцеві хромосоми, різні X; X транслокації) спостерігається клінічна картина синдрому Шерешевського-Тернера. Ідентичну клінічну картину при **чисельних** і структурних аномаліях хромосоми X можна пояснити феноменом її інактивації в клітинному циклі, цитогенетичний прояв якої спостерігається в інтерфазному ядрі у вигляді статевого хроматину X. Інактивація батьківської або материнської хромосоми X відбувається в нормі випадково, однак аномальна хромосома зазвичай інактивується. Отже, дівчатка, мають і структурні і **чисельні** аномалії хромосоми X, які клінічно не відрізняються одна від одної.

Дисомія X при чоловічому фенотипі – найбільш часта форма гоносомної патології у чоловіків – синдром Клайнфельтера. Частота в популяції 1 випадок на 500-700 новонароджених. Це одна з форм первинного чоловічого гіпогонадізму, переважно з каріотипом 47, XXУ, яка супроводжується розумовою відсталістю з рядом психопатологічних ознак. Збільшення числа хромосом X в каріотипі (більше двох) веде, як правило, до більшої затримки розумового розвитку і широкого спектру вад і мікроаномалій розвитку. Існують варіанти синдрому Клайнфельтера з каріотипами 48, XXУУ і 49, XXXУУ. Відомо, що збільшення числа хромосоми У обумовлює високий зріст таких хворих.

Полісомія X включає трисомію (XXX), тетрасомію (XXXX) і пентасомію (XXXXX). Зайві хромосоми X в каріотипі інактивуються і не виявляють різко вираженого патологічного ефекту. Трисомія X зустрічається з частотою 1 на 1000. Найчастішим симптомом є розумова відсталість в стадії дебільності. При *тетрасомії X* (48, XXXX) спостерігають значну розумову відсталість, емоційну нестійкість, епілептичні припадки. З накопиченням хромосом X в каріотипі вади розвитку стають більш вираженими. Випадки *пентасомії X* (49, XXXXX) зустрічаються вкрай рідко.

Хромосома Y – одна з найменших в каріотипі людини. Величина її варіює залежно від розміру гетерохроматинового району довгого плеча. Вона визначає чоловічу стать: каріотип 46, XY. Каріотипи з

одною хромосомою Y без хромосоми X не сумісні з життям. Відсутність хромосоми Y в каріотипі при чоловічому фенотипі зустрічається, в основному, у вигляді мозаїчних форм з хромосомним набором 45, X / 46, XY, що веде до порушення статевого розвитку. Відомі різні форми полісомії хромосоми Y, при яких нерідко спостерігають розумову відсталість. Полісомії Y зустрічаються у вигляді дисомії Y з каріотипом 47, XYY і трисомії Y з каріотипом 48, XYYY.

Триплоїдія

Вперше живонароджена дитина з повною формою триплоїдії (каріотип – 69, XXY або 69, XXX) була описана в кінці 1960-х років; до цього часу було відомо лише про мозаїчні форми. Популяційна частота синдрому невідома, незважаючи на те, що описано близько 100 випадків разом з мозаїчними формами.

Тетраплоїдія

Частота тетраплоїдії у живонароджених дітей не відома. Народження дітей-тетраплоїдів зустрічається вкрай рідко. Такі діти найчастіше помирають протягом перших днів або місяців життя. Описано менш десяти випадків живонароджених дітей-тетраплоїдів (тільки п'ять з них мали немозаїчну форму захворювання). Серед них тільки двоє прожили понад 12 місяців, один хлопчик – до 22 місяців і одна дівчинка – до 26 місяців. Більшість вагітностей з каріотипом плода 92, XXXX закінчуються спонтанними абортами протягом першого триместру.

Аномалії теломерних та центромерних ділянок

В останні роки встановлено, що теломерні і субтеломерні перебудови є однією з причин розумової відсталості з вродженими вадами та / або мікроаномаліями розвитку. Описано близько 2500 індивідумів з розумовою відсталістю, у яких досліджені теломерні і субтеломерні ділянки хромосом, з них 5 % мають подібні перебудови. Розумова відсталість пов'язана зі специфічним фенотипом. Для виявлення справжніх субмікроскопічних аномалій теломер з 1993 р. використовують спеціальну технологію, засновану на виявленні гіперваріабельних повторів ДНК. Використовуючи цей

метод, ідентифікували аномалії, які раніше не виявляли, в 5 % випадків.

Виявлено субтеломерні мікрodelеції короткого і довгого плечей більшості хромосом, які супроводжуються розумовою відсталістю і рядом інших аномалій. Винятк^{ами} є короткі плечі хромосом 12-16, 19, 21, 22 і довгі плечі хромосом 8, 12, 19, 20 і X. Для ряду субмікроскопічних термінальних мікрodelецій ідентифіковані конкретні ділянки: 1p36 і 1q44, p25.2, 3p25-26, 4q35→qter, 5q35.3→qter, 6p25→pter, 6q27→qter, 7p22.1→pter, 7q36.1→qter, 9p22, 9p24.3, 10p13→pter, 10q26.1→qter, 12p13.3→pter, 13q34→qter, 18p11.3.

Термінальні делеції 4p добре відомі завдяки характерному фенотипу синдрому Вольфа-Хіршхорна. Критичний сегмент цього синдрому локалізований в ділянці 4p16.3, і приблизно у 25 % пацієнтів ділянка термінальної делеції виявляється тільки за допомогою FISH аналізу.

Описано мікрodelеції в поєднанні з іншими хромосомними аномаліями. Сібси з помірною розумовою відсталістю з der (10) t (4; 10) (q35.2; q26.3) mat, мали численні аномалії і мікроаномалії розвитку. Синдром Джекобсена викликається мікроскопічно видимими дефектами хромосомних ділянок 11q23, q24 і / або q25. Синдром а-таласемії з розумовою відсталістю викликається термінальною субмікроскопічною делецією 16p13.3. Термінальні делеції 17p мають виражений фенотип синдрому Міллера-Дикера, який характеризується грубою розумовою відсталістю, лісенцефалією, атрофією мозку, агенезією мозолистого тіла, мікроцефалією і нирковими порушеннями. Відомо, що викликати цей синдром можуть як делеції, так і мікрodelеції, критичною є термінальна ділянка 17p13.3.

В даний час для виявлення субтеломерних аномалій зазвичай використовують дві технології. Перша – застосування поліморфних мікросателітних маркерів, які локалізуються в субтеломерних районах. Другий метод – FISH технологія з використанням ДНК проб (BAC, PAC або P1), локалізованих в субтеломерних районах

метафазних хромосом. В даний час всі субтеломери можуть бути досліджені на хромосомах однієї метафазної пластинки за допомогою оригінальної техніки і субтеломерних проб.

Ймовірно, весь геном схильний до мікроделецій, можливо навіть й інтерстиціальних. Однак, між теломерними та інтерстиціальними делеціями є суттєві відмінності. Для теломерної делеції достатньо однієї точки розриву, на відміну від пари точок при інтерстиціальній перебудові, що обумовлює більш високу частоту теломерних делецій. Субтеломерні делеції частіше дають фенотиповий ефект через насиченість цих районів унікальними генами.

Однобатьківська (уніпарентальна) дисомія

Уніпарентальна дисомія – феномен, який визначається присутністю двох гомологічних хромосом (або їх сегментів) тільки одного з батьків і відсутністю відповідної хромосоми (або сегмента) від другого з батьків, що має фенотиповий прояв. Певні ділянки материнського і батьківського геному функціонально неоднакові. Генні локуси в таких ділянках можуть показувати відмінності в активності в залежності від їх походження. При цьому материнські і батьківські геноми можуть вносити різний внесок в розвиток ембріона. Такі специфічні відмінності в регуляції генного локусу в залежності від батьківського походження розглядаються як *геномний імпринтинг*. Геномний імпринтинг може залучати генні локуси батьківського або материнського походження. Наприклад, у соматичних клітинах як чоловіків, так і жінок батьківський локус гомологічних хромосом активний, в той час як материнський локус неактивний. У статевих клітинах феномен імпринтингу може стиратися, і зигота буде мати неімпринтовані батьківські алелі.

Геномний імпринтинг і уніпарентальна дисомія є причиною ряду захворювань людини, таких як синдрому Прадера-Віллі і Ангельмана (локалізовані на плечі 15q). Геномний імпринтинг пов'язаний з особливостями метилування в залежності від походження хромосом. Одним з пояснень геномного імпринтингу є відмінність в метилуванні локусів батьківських хромосом.

Наприклад, якщо ген материнського походження метилований (інактивований), а цей же ген батьківського походження не метилований, то експресується тільки батьківський ген. Так як імпринтинг стирається в статевих клітинах, то гомологічні гени метилуються в жіночих статевих клітинах, і обидва неметиковані гени – в чоловічих статевих клітинах. В результаті в зиготі спостерігається відмінність в метилуванні алелів імпринтованих генів.

Синдроми Прадера-Віллі і Ангельмана – клінічно різні захворювання з порушеннями розвитку та поведінки. Вони викликані втратою функції хромосомних ділянок, локалізованих в проксимальній частині довгого плеча хромосоми 15. Ці захворювання розрізняються внаслідок втрати функції ділянки 15q11-13 хромосоми батьківського або материнського походження. Якщо делеція зачіпає батьківську хромосому, це призводить до синдрому Прадера-Віллі, а якщо материнську – до синдрому Ангельмана.

Діагностика в репродуктивній медицині

Цитогенетичні та молекулярно-цитогенетичні методи використовують в сучасній репродуктивній медицині для аналізу причин безпліддя (дослідження хромосомного набору статевих клітин та ідентифікації каріотипу у пар з порушенням репродуктивної функції), для пошуку генетичних причин спонтанних абортів (визначення хромосомних аномалій в різних тканинах спонтанних абортусів, а також у цих подружніх пар), для пренатальної та преімплантаційної діагностики хромосомних аномалій.

Відомо, що **чисельні** хромосомні аномалії, серед яких переважають анеуплоїдії, мають високу частоту в статевих клітинах та в клітинах плода. Частота **чисельних** хромосомних аномалій в сперматозоїдах становить 1-2 %, в ооцитах – близько 20 %, в клітинах преімплантаційних ембріонів – близько 20 %, в клітинах спонтанних абортусів при терміні 6-20 тижнів – 35 % (тільки анеуплоїдії), в клітинах мертвонароджених плодів – 4 % (тільки анеуплоїдії), в клітинах живонароджених – 0,3 % (тільки анеуплоїдії). Отже, методи

визначення хромосомних аномалій мають велике значення в репродуктивній медицині для виявлення причин порушення репродуктивної функції.

Відомо, що одна з семи подружніх пар в загальній популяції страждає безпліддям. При вивченні генетичних особливостей безпліддя більшість дослідників вважають за краще розглядати відокремлено «жіночий» і «чоловічий» фактор його виникнення.

Причиною безпліддя у жінок можуть бути структурні перебудови хромосоми X, в основному делеції і транслокації. У жінок з безпліддям описані делеції практично у всіх ділянках хромосоми X (крім Xp22.2-Xp22.3 і Xq27-Xq28). Делеції в ділянці Xp11.2 пов'язані зі спонтанними абортами приблизно у 50 % жінок з даною аномалією. У довгому плечі хромосоми X делеції у жінок з безпліддям виявляються переважно у «критичній ділянці» Xq13-Xq26. Частота транслокацій за участю хромосоми X і аутосом оцінюється як 1:30 000 серед новонароджених. Всі чоловіки і більше половини жінок з цими аномаліями безплідні. Для транслокацій, як і для делецій, «критичною ділянкою» хромосоми X у жінок, які страждають на безпліддя, є Xq13-Xq26. Серед аутосом, залучених у транслокації з хромосомою X у жінок з безпліддям, найчастіше зустрічаються хромосоми 15, 21 і 22.

Приблизно 5 % чоловічого безпліддя пов'язано з хромосомними аномаліями. Хромосомні аномалії, виявлені у чоловіків з безпліддям, розподіляються наступним чином: 4,5 % – регулярна дисомія хромосоми X при чоловічому каріотипі (синдром Клайнфельтера, каріотип 47, XXY); 0,72 % – робертсонівські транслокації; 0,39 % – структурні аномалії хромосоми Y; 0,34 % – збалансовані реципрокні транслокації; 0,3 % – різні **чисельні** аномалії статевих хромосом; 0,15 % – додаткові маркерні хромосоми; 0,1 % – каріотип 46, XX при чоловічому фенотипі; 0,06 % – мозаїчні форми синдрому Клайнфельтера (каріотип 47, XXY / 46, XY); 0,04 % – інверсії статевих хромосом і аутосом; 0,23 % – інші **чисельні** і структурні хромосомні аномалії. Відомо, що серед аномалій аутосом у чоловіків з безпліддям спостерігаються переважно аберації хромосом 3-7, 9, 11,

13-15, 16, 17, 19-22. Причиною чоловічого безпліддя можуть бути також мікрodelеції хромосоми Y, які ідентифікуються переважно молекулярно-цитогенетично (FISH або CGH) або молекулярно-генетично (ПЛР). В різних групах чоловіків з безпліддям кількість індивідуумів з мікрodelеціями хромосоми Y може досягати 15 %.

Серед хромосомних аномалій, що є причиною безпліддя і жінок, і чоловіків, особливе місце займають робертсонівські транслокації. Вони залучають акроцентричні хромосоми 13, 14, 15, 21 і 22. Робертсонівські транслокації утворюються за рахунок злиття довгих плечей цих хромосом з одночасною втратою обох коротких плечей. Частота зазначених перебудов становить 1 на 1000 осіб, отже, це одна з найбільш частих структурних аномалій хромосом. Дані хромосомні перебудови не пов'язані з аномальними фенотиповими проявами, однак їх носії входять в групу ризику народження дітей з **чисельними** хромосомними аномаліями та уніпарентальними дисоміями, а також по спонтанним абортam.

Цитогенетика спонтанних абортусів. Дані про наявність **чисельних** хромосомних аномалій в тканинах спонтанних абортусів (СА) необхідні для медико-генетичного консультування пар з порушенням репродуктивної функції і жінок з повторними СА. До 15-20 % всіх вагітностей закінчуються СА на різних термінах. У 2-5 % жінок відбуваються повторні СА. Більше 50 % СА, що трапилися до 15 тижня вагітності, мають **чисельні** хромосомні аномалії. СА в основному пов'язані зі специфічними хромосомними аномаліями. Серед найбільш частих – трисомія 16 (частота серед всіх СА – 7,27 %), 22 (2,26 %), 21 (2,11 %), 15 (1,68 %), 18 (1,15 %), 13 (1,07 %), а також моносомія X (8,35 %) і поліплоїдія (8,18 %), при цьому триплоїди зустрічаються в 5,79 % випадків, а тетраплоїди – в 2,39 %.

Пренатальна цитогенетика. Особливе місце в репродуктивній медицині займає пренатальна діагностика вродженої і генетичної патології плоду, в тому числі і хромосомних аномалій. Показаннями для проведення цитогенетичної пренатальної діагностики є: вік матері (старше 35 років); близнюкова вагітність у жінок старше 31 року; аномалії, виявлені при УЗД; позитивні дані тесту на

наявність специфічних маркерів в сироватці крові матері; наявність у родині дітей з хромосомними аномаліями; раніше виявлена збалансована хромосомна аномалія у одного (або обох) батьків; вплив мутагенів під час вагітності; вік батька (старше 40-45 років). Розроблено ряд методів, що дозволяють з високою ефективністю ідентифікувати хромосомні аномалії в пренатальному періоді, серед яких стандартне каріотипування після культивування клітин крові, амніотичної рідини і хоріона; інтерфазна FISH, а також ряд молекулярно-генетичних методів. Цитогенетичні дослідження в пренатальній діагностиці пов'язані з інвазійними методами. За типом отримання матеріалу плода розрізняють біопсію хоріона, амніоцентез, плацентоцентез, кордоцентез і біопсію шкіри плода. Однак останні розробки в області пренатальної діагностики дозволили припустити, що можливі неінвазійні цитогенетичні методи ідентифікації хромосомних аномалій в клітинах плода. В першу чергу це пов'язано з тим, що в крові матері знаходиться певна кількість клітин плоду і, таким чином, при «сортуванні» материнських і фетальних клітин можливе застосування молекулярно-цитогенетичних і молекулярно-генетичних методів. У практиці пренатальної діагностики виявляються **чисельні** аномалії практично всіх хромосом, серед яких найбільш часто зустрічаються трисомія 21, 18 і 13, а також **чисельні** аномалії статевих хромосом. Особливою складністю цитогенетичної пренатальної діагностики на більш пізніх термінах вагітності (другий триместр) є феномен плацентарного тканиноспецифічного мозаїцизму. Плацентарний мозаїцизм характеризується наявністю **чисельних або структурних** аномалій хромосом в клітинах плаценти, проте безпосередньо в клітинах плода дана аномалія може бути відсутньою. Неодноразово описані випадки плацентарного тканиноспецифічного мозаїцизму, виявленого за пренатальної діагностики з подальшим народженням дитини без хромосомної аномалії. Молекулярно-цитогенетичні методи можуть поставити більш коректний цитогенетичний діагноз.

Преімплантаційна цитогенетика. При безплідді широко використовується метод екстракорпорального запліднення

преовуляторних ооцитів і перенесення ембріонів в порожнину матки. У випадках ризику народження дитини зі спадковою патологією при проведенні цієї процедури рекомендується преімплантаційна діагностика. Вона заснована на отриманні і дослідженні ембріональних біоптатів на стадії 6-10 бластомерів або полярних тілець. Преімплантаційна діагностика проводиться з метою виявлення моногенних захворювань, хвороб, зчеплених зі статтю, а також хромосомних синдромів. Діагностику провадять за FISH дослідження однієї клітини. При їх виконанні можливі помилкові діагнози, пов'язані з високою частотою мозаїцизму при стадії дроблення.

Діагностика моногенних синдромів

Дослідження і діагностику моногенних захворювань проводять переважно молекулярно-генетичними методами. Однак існує ряд хвороб, пов'язаних з генними мутаціями, які можна ідентифікувати цитогенетично. Це моногенні захворювання, викликані мутаціями генів, що беруть участь в епігенетичному контролі транскрипційної активності геному або експансії тринуклеотидних повторів.

Синдром розумової відсталості, зчеплений з ламкою хромосомою X (FRAXA) – найбільш часта генетична патологія, пов'язана з розумовою відсталістю, а також з експансією тринуклеотидних повторів. Частота FRAXA становить 1:3000-1:4000 у чоловіків і 1:6000-1:8000 у жінок. Це захворювання пов'язане зі збільшенням нестабільних CGG-повторів в гені *FMR1* (Fragile X mental retardation 1). У здорових індивідуумів число повторів варіює від 6 до 52, а у хворих кількість повторів перевищує 200. «Премутаційний стан» характеризується збільшенням CGG-повторів від 54 до 200. Збільшення числа тринуклеотидних повторів призводить до того, що ген *FMR1* не експресується в клітинах хворих. Основною ознакою синдрому FRAXA є ламкість хромосоми X у фолат-чутливому сайті, розташованому в Xq27.3, яку можна ідентифікувати цитогенетично. Для діагностики даної патології переважно використовують методи кількісної оцінки експансії CGG-повторів за допомогою ПЛР. Однак ці методи мають обмеження,

серед яких основним, крім методичних, є варіація експресії гена *FMR1* в різних тканинах. Крім того, вони малоефективні при діагностиці FRAXA у жінок, оскільки немутантний ген, розташований на гомологічній хромосомі X, схильний до транскрипції і, отже, аналіз експресії не дозволяє достовірно підтвердити діагноз. Однак цитогенетична експресія ламкості хромосоми X, за відсутності підвищеного вмісту фолієвої кислоти в клітинах хворих, виявляється практично завжди.

Анемія Фанконі – рідкісне аутосомно-домінантне захворювання, яке характеризується вродженими аномаліями кісткового мозку і підвищеною схильністю до новоутворень (переважно до лейкемії). Це перша хвороба, при якій описана спонтанна хромосомна нестабільність: виявляються хромосомні розриви, утворення дицентричних і кільцевих хромосом, в більшості випадків виявляється спорадичне збільшення теломерних ділянок.

Синдром атаксії-телеангіектазії – аутосомно-рецесивне захворювання, пов'язане з дегенерацією нейронів мозочка, імунodefіцитом, хромосомною нестабільністю, підвищеною радіочутливістю і схильністю до онкологічних захворювань. При цій хворобі спостерігаються хромосомні розриви в лімфоцитах периферичної крові і фібробластах, а також тканиноспецифічні хромосомні аберації. Найчастіше в лімфоцитах хворих виявляють збалансовані хромосомні перебудови із залученням хромосом 7 і 14. Молекулярно-генетична діагностика даного захворювання є скрутною.

Синдром Блюма – рідкісне захворювання, серед клінічних ознак якого затримка росту, підвищена чутливість до сонячного світла, еритематозні пошкодження шкіри обличчя, низький зріст, імунodefіцит і схильність до онкологічних захворювань. Хромосомна нестабільність при даному захворюванні характеризується утворенням чотирикутних конфігурацій, які складаються з двох хромосом з центромерами, розташованими навпроти один одного. Ця аномалія викликана рівним обміном ділянок хроматид, розташованих близько центромери двох гомологічних хромосом.

Синдром імунодефіциту, центромерної нестабільності і лицевих аномалій – єдино відоме захворювання, пов'язане з мутаціями в гені, що кодує ДНК-метилтрансферазу. Мутації призводять до аномалій метилування геному і придушення експресії некодуючих послідовностей ДНК. Цитогенетичні дослідження показали наявність мультирадіальних конфігурацій хромосом 1, 9 і 16, а також збільшення прицентромерних гетерохроматинових районів цих хромосом. Методом FISH показано, що у хворих відбувається деконденсація гетерохроматина в 1, 9 і 16 хромосомах.

Таким чином, незважаючи на моногенний характер успадковування зазначених захворювань, діагностика яких здійснюється переважно молекулярними методами, цитогенетичні та молекулярно-цитогенетичні методи часто є більш ефективними.

Питання для контролю

1. Які фенотипові прояви аномалій аутосом вам відомі?
2. Які фенотипові прояви аномалій гоносом вам відомі??
3. Чи зустрічається у людини три- або тетраплоїдія?
4. Як виникають мозаїчні форми хромосомних синдромів?
5. Які клінічні прояви аномалій теломерних та субтеломерних ділянок вам відомі?
6. Що таке геномний імпринтинг?
7. Яка мета використання цитогенетичної та молекулярно-цитогенетичної діагностики в репродуктивній медицині?
8. Які моногенні синдроми можна діагностувати цитогенетичними методами?

Зразки завдань для практичних занять з теми 4

По мікрофотографіям проаналізуйте каріотип людини, визначте стать, ідентифікуйте хромосоми, у разі наявності аномалій ідентифікуйте їх і вкажіть на фенотипові прояви таких аномалій.



1



2



3



4

Тема 5. Міжнародна класифікація та номенклатура хромосом при хромосомних синдромах та аномаліях

Мета: навчити студентів читати стандартні описи каріотипів людини з урахуванням їх варіабельності та самостійно описувати за стандартами цитогенетичні препарати

Теоретичні питання

1. Основні символи та скорочення для позначення хромосомних аномалій.
2. Характеристика нормальної варіабельності хромосом.
3. Варіабельність гетерохроматинових сегментів, супутникових нитей.
4. Кількісні аномалії хромосом.
5. Структурні хромосомні перебудови.

Опорні відомості для опрацювання теоретичних питань

Основні символи і скорочені терміни для позначення хромосомних аномалій. Символи і скорочені терміни, які використовують при опису хромосом і їх аномалій, наведені нижче:

асі – ацентричний фрагмент

add – додатковий матеріал невідомого походження

(~) – знак позначення «приблизного» інтервалу

(→) – знак позначення інтервалу на хромосомі – від і до

< > – позначення рівня плоїдності

[] – дужки для позначення кількості клітин

с – конституціональна аномалія (конституційний каріотип)

CEN – центромера

chi – химера

chr – хромосома

cht – хроматида

ср – складовий каріотип, «сума» всіх досліджених каріотипів

: – знак точок розриву

:: – знак точок розриву і возз'єднання

, (кома) – відокремлює кількість хромосом, статеві хромосоми і хромосомні аномалії

. (точка) – знак відділення субсмути

del – делеція

de novo – позначає хромосомну аномалію, яка не була успадкована

der – похідна хромосома

dic – дицентрик

dir – прямий

dis – дистальний

dmin – парні фрагменти

dup – дуплікація

e – обмін

end – ендоредуплікація

fem – жіноча стать

fis – розбіжність центромер

fra – ламка ділянка

g – пробіл

h – конституційний гетерохроматин

hsr – гомогенно забарвлювана ділянка

i – ізохромосома

idem – позначення однакових структурних або **чисельних** аномалій в каріотипі, в основному, при неоплазіях (у субклонів).

idic – ізоцентрична хромосома

inc – неповний каріотип

ins – інсерція

inv – інверсія

mal – чоловіча стать

mar – маркерна хромосома

mat – материнське походження хромосоми

mos – мозаїк

x (знак множення) – множинні копії перебудованих хромосом

or – альтернативна інтерпретація подій в каріотипі

p – коротке плече хромосоми

() – виділення в дужках хромосоми, що зазнала перебудови, з точками розриву

pat – батьківське походження хромосоми

Ph – філадельфійська хромосома

(+) – знак додавання

prx – проксимальна ділянка хромосоми

(?) – сумнівна ідентифікація хромосоми або хромосомної структури

r – кільцева хромосома

recr – реципрокна зміна хромосом

rea – перебудова хромосом

rob – робертсонівські транслокації

s – позначення супутників

sce – сестринські хроматидні обміни

(;) – знак відділення змінених хромосом з точками розриву в структурних перебудовах, які зачіпають більш ніж одну хромосому

/ – знак відділення клонів.

stk – супутникова нитка

t – транслокація

tas – теломерна асоціація

tel – теломера

ter – термінальний

trc – трицентрична хромосома

trp – триплікація

____ (підкреслення) – знак використовується для відмінності гомологічних хромосом

upd – уніпарентальна дисомія

v – варіабельна ділянка

xma – хіазма

Основні принципи позначення нормального та аномального каріотипу

Позначення точок розриву. Розташування будь-якого розриву позначається смугою, в якій цей розрив відбувся. Розрив, що імовірно пройшов по лінії розділу між двома смугами, визначається довільно

по більш дистальному до центромери номеру. Даний розрив може реально виявитися розташованим на одній з двох послідовних смуг. В цьому випадку розрив може бути вказаний позначеннями обох смуг зі словом «or» (або) між ними, наприклад 2q34 or q35. Якщо розрив локалізований в регіоні, а не в певній смузі, то можна вказати тільки номер регіону (ділянки), наприклад, 2p2. Невизначеність в розташуванні точок розриву може бути також позначена знаком питання, наприклад 1p2?

У *короткій системі* структурно змінені хромосоми позначаються тільки точками розриву в них. Точки розриву записуються в дужках відразу після позначення типу аномалії і залученої до неї хромосоми. Точки розриву позначаються записом смуг і перераховуються в тому ж порядку, що і змінені хромосоми. У разі перебудов однієї хромосоми між точками розриву не ставиться крапка з комою.

Перебудови з двома точками розриву. Точка розриву в короткому плечі завжди записується попереду точки розриву довгого плеча, коли в перебудову з двома точками розриву залучені обидва плечі:

46, XY, inv (3) (p13q25).

Точка розриву більш проксимальна до центромери записується першою, коли дві точки розриву знаходяться в одному плечі:

46, XX, inv (1) (p13p32).

У аномалії з двох хромосом першою записується завжди хромосома, що має менший порядковий номер:

46, XX, t (6; 17) (q13; p12).

Однак, якщо одна з перебудованих хромосом – статева, то вона вказується першою:

46, X, t (X; 18) (p21; q11).

Перебудови з трьома крапками розриву. Винятком, за яким статеві хромосоми і аутосоми з меншим порядковим номером, залучені в перебудову з трьома крапками розриву, записуються першими, служать аномалії, в яких фрагмент однієї хромосоми вставлений в іншу хромосому. В цьому випадку хромосома-донор

записується останньою, навіть якщо це статеві хромосоми або хромосоми з меншим порядковим номером у порівнянні з хромосомою-реципієнтом:

46, X, ins (4; X) (p14; q21q26).

46, XY, ins (5; 3) (p14; q22q27).

Точки розриву в сегменті, де утворилася вставка, завжди вказуються першими, коли інсерція спостерігається в одній хромосомі. Точки розриву утвореного сегмента завжди вказуються подібно аномаліям з двома точками розриву, тобто більш проксимальна до центромери точка розриву вставленого фрагмента завжди записується першою, а більш дистальна – наступною, за умови прямої інверсії, і, навпаки, при інвертованій вставці:

46, XY, ins (1) (q 12p 1 3p22).

Пряма інсерція фрагмента ділянки короткого плеча між точками 1p13 і 1p22 в довге плече в сегмент 1q12:

46, XY, ins (1) (q12p22p13).

У транслокаціях із залученням трьох хромосом, що мають по одній точці розриву в кожній, як правило, статеві хромосоми або аутосоми з меншим порядковим номером записується першою. За нею записується хромосома, яка бере фрагмент від першої хромосоми, і останньою записується хромосома, що віддає фрагмент першій хромосомі:

46, XY, t (9; 22; 17) (q34; q11; q23) – фрагмент хромосоми 9, розташований дистальніше 9q34, перенесений на хромосому 22 до сегменту 22q11, фрагмент хромосоми 22, дистальніший 22q11, перенесений на хромосому 17 до сегменту 17q23 і фрагмент хромосоми 17, дистальніший 17q23, перенесений на хромосому 9 до сегменту 9q34.

Комплексні перебудови з чотирма і більше точками розриву. При виникненні комплексних перебудов повинні вживатися такі варіанти запису:

46, XY, t (2; 7; 22; 21) (p13; q34; q11; q21) – фрагмент хромосоми 2, дистальніший 2p13, перенесений на хромосому 7 в сегмент 7q34, фрагмент хромосоми 7, дистальніший 7q34, перенесений на

хромосому 22 в сегмент 22q11, фрагмент хромосоми 22, дистальніший 22q11, перенесений на хромосому 21 до відділу 21q21 і фрагмент хромосоми 21, дистальніший 21q21, перенесений на хромосому 2 в сегмент 2p13.

При незбалансованих перебудовах, в результаті яких утворюється одна аномальна хромосома, рекомендується позначати її як похідну і використовувати символ *der*. Зазвичай неможливо адекватно описати усі комплексні перебудови короткою системою запису. При комплексних перебудовах завжди повинна вживатися *детальна система позначень*.

Структурні перебудови хромосом виявляють по розташуванню смуг при диференційному фарбуванні. Позначення короткої системи запису зберігаються і в детальній системі, крім аббревіатурного опису композиції смуг в перебудованих хромосомах, коли в круглих дужках вказуються тільки точки розриву. При цьому застосовуються додаткові символи:

одна двокрапка (:) вживається для позначення точок розриву;

подвійна двокрапка (: :) – для позначення точок розриву і возз'єднання;

знак (→) – при позначенні протяжності від і до;

кінець плеча хромосоми записується позначенням смуги або символом *ter* (термінальний), кінець короткого плеча позначається символом *pter*, а довгого – *qter*;

для опису центромери, використовується аббревіатура *cen*.

Опис розташування смуг на хромосомах. Спочатку описується коротке плече, потім довге з ідентифікацією смуг в порядку їх розташування на перебудованій хромосомі. Якщо аномалія зачіпає одну хромосому, то при опису смуги хромосомний номер не вказується. Однак, якщо в аномалію залучені дві або більше хромосом, смуги вказуються відповідним хромосомним номером. Якщо внаслідок перебудови на кінці короткого плеча присутній сегмент не даного плеча хромосоми, опис структурно перебудованої хромосоми починається з сегментів довгого плеча при вказівці номера хромосоми.

Похідні хромосоми – це структурно перебудовані хромосоми, утворені в результаті більш ніж однієї перебудови в одній хромосомі, тобто в результаті інверсій або делецій в ній (в одному або обох плечах), або перебудови, що включає дві і більше хромосом. Таким чином, мова йде про незбалансовані продукти транслокацій. Аномальна хромосома, в якій відсутня якась частина, може бути позначена як *маркерна* хромосома. Похідні хромосоми позначаються символом *der*. Термін «похідні» відноситься до хромосом, які завжди мають не зачеплену перебудовою центромеру. Похідні хромосоми записуються в круглих дужках. За ними слідує всі аберації, які привели до утворення похідної хромосоми. Аберації записуються послідовно із зазначенням точок розриву похідної хромосоми від *p*ter до *q*ter і не розділяються комами. Наприклад, *der (1) t (1; 4) (p32; q21) t (1; 12) (q25; q13)* – похідна хромосома 1, утворена в результаті двох транслокацій: одна – з залученням короткого плеча з точками розриву в 1p32, а інша – з залученням довгого плеча з точками розриву 1q25.

Точно неідентифіковані хромосоми або смуги (сумнівна ідентифікація)/ Знак (?) позначає точно невизначену хромосому або хромосомну структуру: 45, XY, -? 22 – відсутня хромосома, можливо, хромосома 22; місце точно неідентифікованого регіону або смуги на хромосомі позначається наступним чином: 46, XY, *del (2) (q3?)* – точка розриву в довгому плечі хромосоми 2, в регіоні 2q3, але немає можливості визначити її точно.

Неточна локалізація хромосом і точок розриву. Знак приблизно (~) вживається для позначення інтервалів і неточно локалізованих точок розриву в межах сегмента, в якому могли бути ці точки:

46, XY, *del (2) (q21 ~ 24)* – делеція довгого плеча хромосоми 2 з точками розриву в сегментах q21-q24, тобто точки розриву можуть бути в смугах 2q21, 2q22, 2q23, 2q24.

46, XY, *t (3; 11) (q27 ~ 29; q13 ~ 22)* – дві точки розриву в цій транслокації точно не встановлені, в хромосомі 3 вони можуть бути в смугі 3q27, 3q28, 3q29, а в хромосомі 11 – в смугі 11q13, 11q14, 11q21 і 11q22.

43-47, XX – число хромосом в інтервалі від 43 до 47. Зазвичай такий запис застосовується тільки для робочого протоколу при клініко-цитогенетичному аналізі.

Порядок позначення хромосомних аномалій в каріотипі. Аберантні статеві хромосоми записують першими (аномалії хромосоми X записуються перш, ніж хромосоми Y), аномалії аутосом записують згідно з порядковим номером. Для будь-якої хромосоми **чисельні** аномалії вказують попереду структурних. Множинні структурні перебудови в гомологічних хромосомах записують в алфавітному порядку, з огляду на скорочення термінів, що позначають аномалії:

46, t (X; 18) (p11; q11), t (Y; 2) (q11; p15) – аномальну хромосому X записують попереду аномальної хромосоми Y;

48, X, t (Y; 11) (q11; p12), del (7) (q11), + 8, t (9; 21) (q34; q11), + 17, -21, + 22 – транслокація, що залучає хромосому Y, записується першою, за нею йдуть усі аномалії аутосом згідно з порядковим номером хромосом;

49, X, inv (X) (p21 q26), + 2, inv (2) (q21 q31), +8, +10, -20, del (20) (q11), +22 – інверсія в хромосомі X записується першою, додаткова хромосома 2 записується попереду інвертованої хромосоми 2 і моносомія хромосоми 20 попереду делеції хромосоми 20.

Характеристика нормальної варіабельності хромосом. Варіабельність довжини гетерохроматинових сегментів (h), супутникових ниток (stk) або супутників (s) повинна виділятися знаком (+) або (-) після символів h, stk, наступними за відповідними позначками хромосоми і плеча:

16qh+ – збільшення розміру гетерохроматинового району в довгому плечі хромосоми 16;

Yqh- – зменшення розміру гетерохроматинового району в довгому плечі хромосоми Y;

21ps+ – збільшення розміру супутників на короткому плечі хромосоми 21;

22pstk+ – збільшення довжини супутникової нитки на короткому плечі хромосоми 22;

13cenh+mat – збільшення розміру центромерного гетерохроматина хромосоми 13, успадкованої від матері.

Варіабельність гетерохроматинових сегментів, супутникових ниток, супутників і ламкі сайти. Опис зміни розташування гетерохроматинових сегментів, супутникових ниток і супутників:

17ps – супутники на короткому плечі хромосоми 17;

Yqs – супутники на довгому плечі хромосоми Y;

1phqh – гетерохроматиновий матеріал в короткому і довгому плечах хромосоми 1;

1ph – гетерохроматин тільки в короткому плечі хромосоми 1;

1q41h – гетерохроматиновий сегмент хромосоми 1 в смузі q41.

Дуплікація хромосомних структур:

22pss – подвійні супутники на короткому плечі хромосоми 22;

15pstkst – подвійні супутникові нитки на короткому плечі хромосоми 15.

Ламкі сайти, пов'язані з певними хромосомними сегментами, можуть розглядатися як нормальні варіанти, які не проявляються фенотипово. Такі ламкі сайти зазвичай успадковуються кодомінантно і можуть призводити в подальшому до хромосомних аномалій, таких як делеції, багаторадіальні фігури і ацентричні фрагменти. Незважаючи на те, що ламкі сайти можуть бути різних типів і деякі з них можуть індукуватися в культурі клітин за допомогою різних добавок в живильне середовище, всі вони записуються в єдиній номенклатурі:

fra (10) (q25.2) – ламкий сайт на хромосомі 10 в субсмузі 10q25.2;

fra (10) (q22.1q25.2) – два ламких сайти на одній хромосомі 10;

fra (10) (q22.1), fra (10) (q25.2) – два ламких сайти на гомологічних хромосомах;

fra (10) (q25.2), fra (16) (q22.1) – два ламких сайти на різних хромосомах.

Чисельні аномалії хромосом

Знак (+) або (–) ставиться перед хромосомою, збільшення або зменшення кількості якої відбулося. Винятком з цього правила є традиція позначати чисельні перебудови статевих хромосом їх перерахуванням після числа хромосом в каріотипі. Всі чисельні перебудови хромосом позначаються відповідно до рівня плоїдності, тобто для гаплоїдних клітин (кількість хромосом до 34) все порівнюється з 23-ма хромосомами, для диплоїдних клітин (кількість хромосом від 35 до 57) все порівнюється з числом 46, для триплоїдних клітин (58-80 хромосом) все порівнюється з числом 69, в тетраплоїдних клітин (81-103 хромосом) все порівнюється з 92 і т. д.:

26, X, +5, +7, +22 – гіпергаплоїдний каріотип з двома копіями хромосом 5, 7 і 22 і одиничними копіями всіх інших хромосом;

71, XXX, +9, +10 – гіпертриплоїдний каріотип з чотирма копіями хромосом 9 і 10 і трьома копіями всіх інших аутосом.

В інтервалах більше одного рівня плоїдності дослідник може додавати посилання для опису каріотипу, що необхідно для уточнення біологічної значущості. У таких випадках рівень плоїдності (n , $2n$, $3n$ і т. д.) буде даватися між знаками $< >$ після числа хромосом:

76 ~ 102 $<4n>$, XXXX, ... – число хромосом варіює між гіпертриплоїдним і тетраплоїдним каріотипом. Символ $<4n>$ показує, що всі аномалії з'являються при переході на тетраплоїдний рівень.

Аномалії статевих хромосом. Конституціональні аномалії статевих хромосом записують так:

45, X – каріотип з одною хромосомою X (синдром Шерешевського-Тернера);

47, XXУ – каріотип з двома хромосомами X і хромосомою У (синдром Клайнфельтера);

47, XXX – каріотип з трьома хромосомами X (синдром трисомії X);

47, ХУУ – каріотип з одною хромосомою X і двома хромосомами У (синдром дисомії У);

48, XXXY – каріотип з трьома хромосомами X і одною хромосомою Y.

Такі зміни числа статевих хромосом даються без вживання знаків (+) або (–). Придбані аномалії статевих хромосом в онкоцитогенетиці записують зі знаком плюс (+) або мінус (–).

Аномалії аутосом. Конституційно придбані або втрачені хромосоми записуються зі знаком плюс або мінус:

47, XY, +21 – чоловічий каріотип з трисомією 21;

48, XX, +13, +22 – жіночий каріотип з трисомією 13 і трисомією 22;

45, XX, –21 – жіночий каріотип з моносомією 21;

46, XY, +9, –21 – чоловічий каріотип з трисомією 9 і моносомією 21.

Придбані аномалії аутосом в індивідуумів з конституціональними аномаліями позначаються як аномалії статевих хромосом, тобто написанням літери «с» після запису конституціональної аномалії:

48, XX, +21с, +21 – придбана хромосома 21 у пацієнта з синдромом Дауна;

46, XX, +21с, –21 – втрачена хромосома 21 у пацієнта з синдромом Дауна.

Тут треба пояснити застосування термінів «придбані аномалії хромосом» і «конституціональні аномалії хромосом». Конституціональні хромосомні аберації є результатом хромосомних розривів і наступного возз'єднання в різних конфігураціях. Цей тип аберацій успадковується від батьків або виникає у гаметах (мутації *de novo*). Придбані хромосомні аберації можуть виникати у соматичних клітинах людини в різні періоди її життя.

Уніпарентальна дисомія, аббревіатура *upd* – стан, при якому дві гомологічні хромосоми успадковуються від одного з батьків та з високою ймовірністю визначаються цитогенетично:

46, XX, *upd* (15) *pat* – жіночий каріотип з уніпарентальною дисомією хромосоми 15 батьківського походження;

46, XY, upd (21) mat / 47, XY, + 21 – чоловічий каріотип, в якому одна клітинна лінія з уніпарентальною дисомією хромосоми 21 материнського походження, а інша – з трисомією 21.

Структурні хромосомні перебудови. Структурні аномалії хромосом записують відповідно до рівня плоїдності, в гаплоїдних клітинах у відповідності з одною хромосомою кожного типу, в диплоїдних клітинах – двома, в триплоїдних клітинах – трьома, в тетраплоїдних клітинах – чотирма хромосомами кожного типу:

69, XXX, del (8) (p12) – дві нормальні хромосоми 8 і одна з делецією короткого плеча в ділянці p12;

69, XXX, del (7) (q22), inv (7) (p13q22), t (7; 15) (p15; q11) – немає нормальних хромосом 7: у одній з них делеція довгого плеча, в іншій – інверсія, а третя залучена у збалансовану транслокацію з хромосомою 15;

70, XXX, del (6) (p11) – три нормальних хромосоми 6 і одна з делецією короткого плеча в ділянці p11;

92, XXY, del (7) (p11), del (7) (q21), del (7) (q33) – одна нормальна хромосома 7 і три з різними делеціями.

У проміжках, що охоплюють більш ніж один рівень плоїдності, вибирають ознаку, найбільш біологічну значиму для опису аномалій хромосом. У цих випадках рівень плоїдності (n , $2n$, $3n$ і т. д.) записують в кутових дужках після написання кількості хромосом, наприклад $73 \sim 102 <4n>$, XXXX, Коли нормальні хромосоми замінені на структурно змінені, то нормальні хромосоми не повинні вказуватися як відсутні:

46, XX, inv (2) (q21q33) – інверсія однієї хромосоми 2. Немає необхідності вказувати відсутню хромосому 2, наприклад, каріотип не має записуватися 46, XX, -2, + inv (2);

45, XY, dic (13; 15) (q22; q24) – з символу dic з позначення хромосом, залучених в цю аномалію, ясно, що дицентрична хромосома замінила дві нормальні хромосоми. Немає необхідності вказувати відсутню нормальну хромосому;

46, XX, der (1) t (1; 3) (p22; q13) – дериват хромосоми 1 замінив нормальну хромосому 1 і немає необхідності вказувати на відсутність

нормальної хромосоми. З опису каріотипу видно, що він містить одну нормальну хромосому 1 і дві нормальні хромосоми 3;

46, XX, ins (2;?) (p22;?) – матеріал невідомого походження був вбудований в смугу 2p22 в одній з хромосом 2. Гомологічна хромосоми 2 нормальна;

45, XX, –10, der (10) t (10; 17) (q22; p13) – der (10) замінив нормальну хромосому 10; гомологічна хромосома 10 загублена. У цій ситуації втрачена хромосома 10 повинна бути вказана.

Позначення структурних аномалій

Кожна аномалія описується вперше за допомогою короткої системи, і, при необхідності, за допомогою деталізованої системи.

Додатковий матеріал невідомого походження. Символ add (лат. additio) використовують для позначення додаткового матеріалу невідомого походження, який приєднався до хромосомного району або смуги. Ці аномалії часто описували за допомогою символів t і ?, Наприклад, t (3;?) (p22;?), але лише іноді відомо, що аномальна хромосома дійсно з'явилася в результаті транслокації.

46, XX, add (20) (p12) або 46, XX, add (20) (? :: p12→ qter) – додатковий матеріал приєднався до смуги 20p12, але ні походження додаткового сегмента, ні тип аномальної хромосоми не відомі (тут і далі перший запис за скороченою формою, другий – за детальною).

46, XY, add (11) (q13) або 46, XY, add (11) (pter→q13 :: ?) – додатковий матеріал невідомого походження замінив сегмент 11q13→qter.

Коли додатковий матеріал невідомого походження приєднався до обох плечей хромосоми і / або замінив більш ніж один сегмент в хромосомі, треба використовувати символ der:

46, XY, der (5) add (5) (p15) (q23) або 46, XY, der (5) (? :: p15→q23 :: ?) – додатковий матеріал невідомого походження приєднався в смугі 5p15 в короткому плечі, а також замінив сегмент 5q23→qter в довгому плечі.

Невідомий матеріал, вбудований в плече хромосоми, має бути описаний за допомогою символів ins і ?:

46, XY, ins (4;?) (q13 ; ?) або 46, XY, ins (4;?) (Pter→q13 :: ? :: q13→qter) – матеріал невідомого походження вбудований в довге плече хромосоми 4 в смузі 4q13. Використання символу add (4) (q13) означає, що матеріал невідомого походження зайняв місце сегмента 4q13→qter.

Делеції. Символ del використовується для позначення як термінальних, так і інтерстиційних делецій. У короткій системі не використовують стрілки для позначення протяжності втраченого сегмента:

46, XX, del (4) (q25) або 46, XX, del (4) (pter→q25 :) – делеція з розривом (:) в смузі 4q25. Частина хромосоми, що залишилася, складається з цілого короткого плеча хромосоми 4 і частини довгого плеча між центромерою і смугою 4q25.

46, XY, del (5) (q13q34) або 46, XY, del (5) (pter→q13 :: q34→qter) – інтерстиційна делеція з розривом і возз'єднанням (::) в смугах 5q13 і 5q34. Сегмент між цими смугами втрачений.

46, XY, del (5) (q13q13) або 46, XY, del (5) (pter→q13 :: q13→qter) – інтерстиційна делеція невеликого сегмента в межах смуги 5q13.

Похідні («дериватні») хромосоми. Дериватна хромосома – це структурно змінена хромосома, що виникла в результаті перебудови, яка залучає дві або більше хромосом, або в результаті множинних змін, що сталися з однією хромосомою. Цей термін завжди відноситься до хромосоми, що має інтактну центромеру. Похідна хромосома в результаті однієї перебудови, що зачіпає дві і більше хромосом, записується в дужках, після чого записується тип аномалії:

46, XY, der (1) t (1; 3) (p22; q13) або 46, XY, der (1) (1qter→1p22 :: 3q13→3qter) – дериватна хромосома 1 виникла в результаті транслокації сегмента хромосоми 3, дистальніше 3q13 на коротке плече хромосоми 1 в смузі 1p22. Der (1) заміняє нормальну хромосому 1 і немає необхідності вказувати її відсутність. Очевидна наявність двох нормальних хромосом 3. Каріотип незбалансований через втрату сегмента 1p22→pter і придбання 3q13→qter.

45, XX, der (1) t (1;2) (p22; q13), – 2 – дериватна хромосома 1 замінила нормальну хромосому 1. Але є тільки одна нормальна хромосома 2. Термін «філадельфійська хромосома» з історичних міркувань використовується для опису дериватної хромосоми 22, що утворилася в результаті транслокації t (9; 22) (q34; q11). Аббревіатура Ph (раніше Phi) може використовуватися в робочому порядку для запису, але не в опису каріотипу, де рекомендується запис der (22) t (9; 22) (q34; q11).

Дериватна хромосома, що є результатом більш ніж однієї перебудови, позначається в дужках; після неї слідують всі аномалії, які беруть участь у створенні дериватної хромосоми. Аберації перераховуються відповідно до розташування точок розриву дериватної хромосоми від qter до pter і не розділяються комою:

der (1) t (1; 2) (p32; q21) t (1; 12) (q25; q13) або der (1) (2qter→2q21 :: 1p32→1q25 :: 12q13→ 12qter) – дериватна хромосома 1 створена двома транслокаціями, одна з яких зачіпає коротке плече з точкою розриву в 1p32, а інша – довге плече з точкою розриву в 1q25;

der (9) del (9) (p12) t (9; 14) (q34; q11) або der (9) (: 9p12→9q34 :: 14q11→14qter) – дериватна хромосома 9 є результатом делеції короткого плеча з точкою розриву в 9q12 і t (9; 14), що зачіпає довге плече з точкою розриву в 9q34.

В опису дериватних хромосом, що утворилися в результаті множинних комплексних перебудов, за короткої системи дериватні хромосоми в перших дужках перераховуються по порядку номерів з подальшим описом аномалій, що призвели до виникнення цих хромосом. Хромосоми, перераховані в дужках, повинні розділятися комою, а не крапкою з комою, наприклад: 46, XX, der (1, 3, 11) t (1; 3) (p32; q21) inv (1) (p22q21) t (1; 11) (q25; q13).

Дицентричні хромосоми. Для опису дицентричних хромосом використовують символ dic. Ізодицентричні хромосоми позначають idic. Дицентрична хромосома заміщає одну або дві нормальні хромосоми. Отже, немає необхідності вказувати відсутні нормальні хромосоми (в т. ч. і при робертсонівських транслокаціях). Дицентрична хромосома зараховується як одна хромосома:

45, XY, dic (13;13) (q14;q33) або 45, XY, dic (13;13) (13pter→13q14 :: 13q33→13pter) – розрив і возз'єднання відбулися в смугах 13q14 і 13q33 на двох гомологічних хромосомах 13 і створили дицентричну хромосому. Немає жодної нормальної хромосоми 13;

45, XX, dic (13;14) (q22;q31) або 45, XX, dic (13;14) (13pter→13q22 :: 14q31→14pter) – дицентрична хромосома з розривом і возз'єднанням в смугах 13q22 і 14q31. Відсутні хромосоми 13 і 14 не вказуються, бо вони заміщені дицентричною хромосомою. Отже, каріотип містить одну нормальну хромосому 13, одну нормальну хромосому 14, і dic (13;14). В результаті є дисбаланс – втрата сегментів дистальніше 13q22 і 14q31;

46, X, idic (Y) (q12) або 46, X, idic (Y) (pter→q12 :: q12→pter) – розрив і возз'єднання відбулися в смузі Yq12 на сестринських хроматидах, що сформувало ізодицентричну хромосому Y. В результаті хромосомного дисбалансу сталася втрата сегмента Yq12→qter і придбання Ypter→q12;

47, XY, + idic (15) (q22) або 47, XY, + idic (15) (pter→q22 :: q22→pter) – додаткова ізодицентрична хромосома 15. Є дві нормальні хромосоми 15 і idic (15).

Дуплікації. Символу dup можуть передувати dir або inv для позначення того, що ця дуплікація пряма або інвертована. Однак ця ситуація рідкісна, так як орієнтація дуплікованого сегмента ясна з порядку розташування смуг відносно центромери. Для вказівки орієнтації в короткій системі запису не використовують стрілки:

46, XY, dup (1) (q22q25) або 46, XY, dup (1) (pter→q25 :: q22→qter) – пряма дуплікація сегмента;

46, XX, dup (1) (q25q22) або 46, XX, dup (1) (pter→q25 між смугами 1q22 і 1q25 :: q25→q22 :: q25→qter) або (pter→q22 :: q25→q22 :: q22→qter) – інвертована дуплікація сегмента між смугами 1q22 і 1q25. Тільки деталізована система дає точне уявлення про розташування дуплікованого сегмента.

Центромерні розриви. Символ fis (fission) використовується для позначення цетромерного розриву: 47, XX, -10, +fis (10) (p10), +fis (10) (q10) або 47, XX, -10, +fis (10) (pter→p10 :), +fis (10) (qter→10 :)

– центромерний розрив створив дві похідні хромосоми, що складаються з коротких або довгих плечей. Точки розриву присвоюються p10 і q10 згідно з морфологією отриманих хромосом.

Інверсії. Символ inv позначає парацентричну або періцентричну інверсію, яку відображають у запису смуг.

46, XX, inv (3) (q22q27) або 46, XX, inv (3) (pter→q22 :: q27→q22 :: q27→qter) – парацентрична інверсія, в якій розрив і возз'єднання відбулися в смугах 3q22 і 3q27.

46, XX, inv (3) (p14q22) або 46, XX, inv (3) (pter→p14 :: q22→qter) – періцентрична інверсія з точками розриву і возз'єднання в смугах 3p14 і 3q22.

Ізохромосоми. Символ i (а не iso) використовується для ізохромосом і idic для ізодицентричних хромосом.

46, XY, i (18) (q10) або 46, XY, i (18) (qter→q10 :: q10→qter) – ізохромосома з цілого довгого плеча хромосоми 18 і, отже, точка розриву вказується в 18q10. Немає жодної нормальної хромосоми 18. Короткий запис «i (18q)» може використовуватися в тексті для опису цієї ізохромосоми.

46, X, i (X) (q10) або 46, X, i (X) (qter→q10 :: q10→qter) – одна нормальна хромосома X і ізохромосома X по довгому плечу.

46, XY, idic (17) (p11) або 46, XY, idic (17) (qter→p11:: p11→qter) – ізодицентрична хромосома, що складається з довгих плечей хромосоми 17 і матеріалу короткого плеча між центромерою та точками розриву в 17p11.

Маркерні хромосоми. Маркерна хромосома (mar) – структурно змінена хромосома, в якій жодна частина не може бути визначена. Якщо будь-яка частина аномальної хромосоми може бути визначена, то це дериватна хромосома (der) і вона може бути адекватно описана за номенклатурою для дериватних хромосом. В опису каріотипу присутність mar має позначатися знаком плюс (+). Не потрібно робити спроб описати в каріотипі морфологію маркерних хромосом.

47,XX,+mar – одна додаткова маркерна хромосома.

47,XY,t(12;16)(q13;p11),+mar – одна маркерна хромосома і транслокація – t (12; 16).

Коли в каріотипі є кілька різних маркерних хромосом, їх можна позначати арабською цифрою після символу *mar*, тобто *mar*₁, *mar*₂ і т. д. Слід підкреслити, що даний маркер не походить від хромосоми 1, 2, і т. д. Множинні копії одного маркера позначаються знаком множення після символу маркера, тобто *mar*₁^{x2} позначає два маркера 1; *mar*₁^{x3} позначає три маркера 1 і т. д.

Якщо будь-яка частина аномальної хромосоми може бути визначена при невідомому походженні центромери, то ця аномальна хромосома записується як *der*, а не як *mar*:

47,XY,+*der*(?)t(15)(q24) – центромера невідомого походження, хромосома позначається як *der* (?), частина її складається з сегмента хромосоми 15, дистальніше смуги 15q24.

Парні фрагменти (*dmin*) – особливий вид ацентричних структур, записують в каріотипі, якщо вони зустрічаються більш, ніж в одній метафазній клітині. Парні фрагменти не включають в загальну кількість хромосом, і символу *dmin* не має передувати знак складання. Цей знак ставиться перед будь-яким центричним маркером. Число *dmin* на клітину вказується перед символом: 49, XX, ..., +*mar*₃, 2*dmin*.

Ацентричні фрагменти (*ase*), відмінні від *dmin*, присутні в більш ніж одній клітині, не записують в каріотипі, але відзначають в дослідженнях хромосомної нестабільності.

Ламки ділянки, що позначаються *fra*, можуть являти собою як варіанти норми, так і бути пов'язаними зі спадковими захворюваннями і / або фенотиповими аномаліями. В обох випадках застосовується одна номенклатура:

46, X, *fra* (X) (q27.3) – ламка ділянка в субсмузі Xq27.3 однієї з хромосом X у жінки;

46, Y, *fra* (X) (q27.3) – ламка ділянка в субсмузі Xq27.3 хромосоми X у чоловіка.

Кільцеві хромосоми, що позначаються символом *r*, можуть складатися з однієї або декількох хромосом. При кільцевих хромосомах, які зачіпають одну хромосому, між позначеннями смуг крапки з комою не ставляться:

46, XY, r (7) (p22q36) або 46, XY, r (7) (:: p22→q36 ::) – кільцеві хромосоми, в яких точки розриву і возз'єднання розташовуються в ділянках 7p22 і 7q36. Сегменти, розташовані дистальніше цих точок розриву, втрачені.

Кільцеві хромосоми, утворені більш ніж від одною хромосомою, можуть включати одну або кілька центромер. Моноцентричні кільцеві хромосоми позначаються як похідні (der) хромосоми. Хромосома, якій належить центромера записується першою. Розташування ацентричного сегмента визначається за порядком точок розриву. Дицентричні і трицентричні хромосоми позначаються символом r з попереднім записом dic або trc, відповідно. У поліцентричних кільцевих хромосомах статеві хромосоми або аутосоми з меншим порядковим номером записуються першими:

dic r (1; 3) (p36q32; p24q26) або dic r (1; 3) (:: 1p36→1q32 :: 3p24→3q26 ::) – дицентрична кільцева хромосома, що складається з хромосом 1 і 3, при цьому ділянка 1q32 приєднана до 3p24, а ділянка 3q26 – до 1p36;

trc r (1; 3; 12) (p36q32; q26p24; p12q23) або trc r (1; 3; 12) (:: 1p36→1q32 :: 3q26→3p24 :: 12p12→12q23 ::) – трицентричне кільце, в якому ділянка 1q32 приєдналася до 3q26, 3p24 і 12p12, а ділянка 12q23 – до 1p36. Коли походження кільцевої хромосоми відомо, її опис поміщається згідно з порядковим номером – 49, XX, +1, +3, +r (7), +8.

Коли походження кільця не встановлено, його наявність позначається в кінці каріотипу з попереднім знаком (+), але після встановлених хромосом: 50, XX, +1, +3, +8, +r.

Реципрокні транслокації. При транслокаціях (t), які зачіпають дві хромосоми, статеві хромосоми або аутосоми з меншим порядковим номером завжди записуються першими. Те ж вірно у випадках транслокацій, які залучають три хромосоми, але при таких перебудовах другою записують хромосому, яка отримала сегмент від записаної першої, а хромосома, записана останньою – дала сегмент хромосомі, написаною першою. По можливості, тим же правилом слід керуватися у випадках участі чотирьох хромосом і при більш

складних збалансованих транслокаціях. Для позначення гомологічних хромосом одна з них може бути підкреслена одною рисою.

Перебудови з двома точками розриву:

46, XX, t (2; 5) (q21; q31) або 46, XX, t (2; 5) (2pter→2q21 :: 5q31→5qter; 5pter→5q31 :: 2q21→2qter) – розрив і возз'єднання відбулися в ділянках 2q21 і 5q31. Сегменти, дистальні до цих ділянок, обмінялися;

46, XX, t (2; 5) (p12; q31) або 46, XX, t (2; 5) (2qter→2p12 :: 5q31→5qter; 5pter→5q31 :: 2p12→2pter) – розрив і возз'єднання відбулися в ділянках 2p12 і 5q31. Сегменти, дистальні до цих ділянок, обмінялися. Дериватна хромосома 2 не має термінального сегмента коротких плечей, і тому її опис в детальній системі починається з 2qter;

46, X, t (X; 14) (q26; q13) або 46, X, t (X; 14) (Xpter→Xq26 :: 14q13→14qter; 14pter→14q13 :: Xq26→Xqter) – розрив і возз'єднання відбулися в ділянках Xq26 і 14q13. Сегменти, дистальні до цих ділянок, помінялися місцями. Так як одна з хромосом, що беруть участь в транслокації, статеві, то вона записується першою. Правильний запис 46, X, t (X; 14), а не 46, XX, t (X; 14). Аналогічно записується така ж транслокація для чоловічого каріотипу – 46, Y, t (X; 14), а не 46, XY, t (X; 14);

46, t (X; Y) (q24; q11) або 46, t (X; Y) (Xpter→Xq24 :: Yq11→Yqter; Ypter→Yq11 :: Xq24→Xqter) – реципрокна транслокація між хромосомами X і Y з точками розриву в Xq24 і Yq11.

Перебудови з трьома крапками розриву:

46, XY, t (1; 7; 5) (p21; q22; q23) або 46, XY, t (1; 7; 5) (1qter→1p21 :: 5q23→5qter; 7pter→7q22 :: 1p21→1pter; 5pter→5q23 :: 7q22→7qter) – сегмент хромосоми 1, розташований дистальніше 1p21, перенесений на хромосому 7 в ділянці 7q22, сегмент на хромосомі 7, дистальніший 7q22, транслокований на хромосому 5 в ділянці 5q23, а сегмент хромосоми 5, дистальніший 5q23, перенесений на хромосому 1 в 1p21.

Складні перебудови з чотирма точками розриву:

46, XY, t (3; 9; 9; 22) (p13; q22; q34; q11) або 46, XY, t (3; 9; 9.; 22) (3qter→3p13 :: 22q11→22qter; 9pter→9q22 :: 3p13→3pter; 9pter→9q34 :: 9q22→9qter; 22pter→22q11 :: 9q34→9qter) – аномалія з чотирма точками розриву за участю двох гомологічних хромосом 9. Сегмент хромосоми 3, дистальний до 3p13, транслокований на хромосому 9 в ділянці 9q22, сегмент хромосоми 9, дистальний до 9q22, перенесений на гомологічну хромосому 9 в ділянці 9q34, останній сегмент хромосоми 9, дистальний до 9q34, перенесений на хромосому 22 в 22q11, а сегмент хромосоми 22, дистальний до 22q11, транслокований на хромосому 3 в 3p13.

Транслокації, що зачіпають ціле плече. Транслокації цілих плечей хромосом можуть бути записані точним зазначенням центромерних ділянок p10 і q10 згідно з морфологією аномальних хромосом. У випадках збалансованих обмінів цілими плечима точки розриву в хромосомі з меншим номером або в статевих хромосомах записуються для p10:

46, XX, t (1; 3) (p10; q10) або 46, XX, t (1; 3) (1pter→1p10 :: 3q10→3qter; 3pter→3p10 :: 1q10→1qter) – реципрокна транслокація цілих плечей, при якій короткі плечі хромосоми 1 приєдналися до центромери з довгими плечима хромосоми 3, а довгі плечі хромосоми 1 приєдналися до коротких плечей хромосоми 3.

Робертсонівські транслокації. Це особливий тип транслокацій, результатом якого є центричне злиття довгих плечей акроцентричних хромосом 13-15 і 21, 22 з одночасною втратою обох коротких плечей. Ця подія може бути адекватно описана по номенклатурі для незбалансованих транслокацій, які зачіпають цілі плечі, тобто з використанням символу der:

45, XX, der (15; 21) (q10; q10) або 45, XX, der (15; 21) (15 qter→15q10 :: 21q10→21qter) – розрив і возз'єднання відбулися в смугах 15q10 і 21q10 в центромерах хромосом 15 і 21. Дериватна хромосома замінила одну хромосому 15 і одну хромосому 21. Немає необхідності вказувати відсутні хромосоми. Каріотип містить одну нормальну хромосому 15, одну нормальну хромосому 21 і der (15; 21). Короткі плечі хромосом 15 і 21 втрачені.

46, XX, + 15, der (15; 21) (q10; q10) – похідна хромосома, що складається з довгих плечей хромосоми 15 і довгих плечей хромосоми 21 (так само, як і вище), замінила одну хромосому 15 і одну хромосому 21. В даному випадку, однак, є дві нормальні хромосоми 15, тобто додаткова хромосома 15 при передбачуваної її відсутності через наявність der (15; 21). Отже, додаткова хромосома позначається як +15. Каріотип, таким чином, містить дві нормальні хромосоми 15, одну нормальну хромосому 21 і der (15; 21). Результатом такого незбалансованого порушення є втрата короткого плеча хромосоми 21 і трисомія довгого плеча хромосоми 15. Символ rob може зберігатися, як варіант запису конституційних похідних хромосом, що виникли в результаті робертсонівських транслокацій, наприклад 45, XX, rob (15; 21) (q10; q10). Скорочення rob не слід застосовувати при описі придбаних аномалій.

Контрольні питання

1. В чому міститься різниця між скороченим та повним описом каріотипу?
2. Коли використовують скорочений опис каріотипу, а в яких випадках бажано використовувати лише повну форму опису?
3. Як ви розумієте термін конституціональні аномалії хромосом?

Зразки завдань для практичних занять з теми 5

1. Розшифруйте запис:
47,XY,+idic(15)(pter→q22::q22→pter)?
2. Розшифруйте запис:
47,XX,-10,+fis(10)(pter→p10:),+fis(10)(qter→10:)?
3. Розшифруйте запис: 46,Y,fra(X)(q27.3)?
4. Розшифруйте запис:
46,XX,t(8;21)(q22;q21)[20]/47,XXX,t(8;21)(q22;q21)[4]?
5. Розшифруйте запис: 46,X,+r ish r(X)(wcpX+,DXZl+)[18]
/r(X)(wcpX+,DXZl+)[7]?

Тема 6. Онкоцитогенетика

Мета: ознайомити студентів з особливостями трансформації каріотипу за неоплазій, можливими причинно-наслідковими зв'язками цього процесу та з основами класифікації і номенклатури в онкоцитогенетиці

Теоретичні питання

1. Історія питання.
2. Каріотип клітин неоплазій.
3. Особливості хромосомних перебудов і зміни хромосомного набору ракових клітин.
4. Варіювання каріотипу ракових клітин в одній популяції.
5. Основи класифікації і номенклатури в онкоцитогенетиці (ISCN 2016).
6. Можливості цитогенетичних досліджень в онкогематологічній практиці.
7. Цитогенетична характеристика гострого лімфобластного лейкозу.
8. Цитогенетична характеристика мінімальної залишкової хвороби при гострому лімфобластному лейкозі.
9. Цитогенетична характеристика гострого мієлобластного лейкозу.

Опорні відомості для опрацювання теоретичних питань

Аномалії мітозу в клітинах пухлини вперше описані Д. Гансманом у 1890 р. Класичне уявлення про онкологічні захворювання полягає в тому, що неоплазії виникають внаслідок спорадичних мутацій у соматичних клітинах. Описано широкий спектр генетичних порушень, пов'язаних з онкологічними захворюваннями: мікроаномалії послідовностей ДНК або РНК, відхилення в метилуванні геному, анеуплоїдії різних хромосом, втрата гетерозиготності, структурні аномалії хромосом, проникнення екзогенних послідовностей нуклеїнових кислот. Сьогодні

онкоцитогенетичні дослідження розглядаються як одна з найважливіших галузей генетики людини.

Основи класифікації та номенклатури в онкоцитогенетиці. В основі номенклатури неоплазій лежить поняття клон – клітинна популяція, яка походить від однієї клітини. Однак, з огляду на спорадичний характер мутацій, що призводять до пухлини, в одному клоні можуть бути присутні клітини з різними хромосомними аномаліями. Слід зазначити, що загальним правилом опису каріотипу в онкоцитогенетиці є те, що записуються тільки аномалії каріотипу, які мають клональне походження. Популяції клонального і неклонального походження не можна записувати як один каріотип. Число клітин проаналізованого клону записується в квадратних дужках після каріотипу:

46, XY, t (8; 21) (q22; q21) [24] – клон з транслокацією (8; 21), визначений в 24-х метафазних пластинках;

46, XX, t (8; 21) (q22; q21) [20] / 47, XXX, t (8; 21) (q22; q21) [4] – клон з 46 хромосомами, визначеними в 20-ти клітинах, і з 47 хромосомами – в 4-х клітинах.

Основна лінія клітин (mainline – ml) є терміном, який вживають виключно для опису клону з великою кількістю клітин у відповідних популяцій. Дане скорочення в каріотипі не пишеться, але в текстах з онкоцитогенетики зустрічається досить часто. Наприклад 46, XY, t (9; 22) (q34; q11) [2] / 47, XY, + 12, t (9; 22) (q34; q11) [16] – в цьому випадку клон, в якому міститься 47 хромосом, є основною лінією клітин.

Для характеристики популяції клітин використовується також термін вихідна лінія клітин (stemline – sl). Вона визначається як лінія клітин, за рахунок зміни якої утворилися інші побічні лінії (sideline – sdl). Дані скорочення в каріотипі не пишуть, але в текстах по онкоцитогенетиці зустрічаються досить часто, наприклад 46, XY, t (7; 12) (q31; q23) [3] / 47, XY, + 9, t (7; 12) (q31; q23) [16] / 48, XY, + 9, t (7; 12) (q31; q23), + 21 [7] – клон, що складається з 46 хромосом – вихідна лінія клітин; всі інші клони є побічними лініями; клон, що складається з 47 хромосом – основна лінія клітин. Послідовність

запису аномальних клонів вибудовується в міру зростання складності аберації. Отже, першою записується початкова лінія клітин, а потім клони, які з'явилися за рахунок еволюції.

Якщо в подальшій лінії клітин спостерігається однакова структурна або чисельна хромосомна аномалія, то для скорочення запису каріотипу, виявленого в пухлини, може бути використаний термін *idem*. Слід пам'ятати, що *idem* відноситься до першого записаного клону; якщо виявлено кілька підклонів з відмінними аномаліями, то їх записують повністю:

47, XX, del (3) (p14), inv (6) (p21; q25), +16 [24] / 49, *idem*, +19, +20 [3] – в другому клоні присутні всі хромосомні аномалії, виявлені у першому, а також трисомія хромосом 19 і 20;

49, XX, inv (17) (q24; q25), + 17, + 18, + 21 [12] / 100, *idem*x2, +3, +3 [4] – в другому тетраплоїдному клоні, крім інверсії і гексасомії хромосом 17, 18, 21, присутня також гексасомія хромосоми 3.

Багато пухлин характеризуються гетерогенністю каріотипу при наявності деяких подібних аберацій. В даному випадку слід записувати результати аналізу у формі так званого композитного каріотипу (ср). Композитний каріотип містить всі клони з хромосомними аномаліями, при цьому записується також діапазон кількості хромосом в досліджених метафазних пластинках пухлини. Загальна кількість клітин з аномаліями записується в квадратних дужках за допомогою скорочення ср:

46 ~ 51, XY, del (8) (p22), del (9) (q32), +12, +12, t (18; 20) (q23; q11), del (21) (q22), +19, +20, +21, +22, +22 [ср28] – необхідно відзначити те, що не у всіх клітинах обов'язково повинні бути всі перераховані вище аберації. Число клітин з відповідною аномалією хромосом може бути також представлено в квадратних дужках:

45-47, XY, t (3; 7) (q24; q33) [3], -3 [4], +16 [5], -18 [3], +21 [2] [ср12].

Слід зазначити, що композитний каріотип є «сумою» каріотипів всіх вивчених метафазних пластинок. Приклад запису каріотипу на базі отриманих даних для трьох клітин (47, XX, +3; 48, XX, +14, +21 та 46, XX, +4, -14):

46-48, XX, +3, +4, +14, -14, +21 [cp3] (потрібно записувати як моносомію, так і трисомії по гомологічним хромосомами).

Основне правило запису композитного каріотипу при онкоцитогенетичному аналізі – включення лише тих аномалій, що мають клональне походження. Клони з різними хромосомними аномаліями, що мають різне походження (незалежні клони), записуються в послідовності від найбільш до найменш численного клону (по числу проаналізованих клітин). Якщо присутня нормальна диплоїдна популяція клітин, то її каріотип завжди записується в кінці: 46, XX, t (2; 3) (p24; p23) [10] / 47, XXX, dup (5) (q22) [7] / 49, XX, + 8, + 8, + 8 [4] / 46, XX [10].

За умови наявності як незалежних клонів, так і клонів загального походження, спочатку записують клони загального походження, а потім незалежні клони в порядку зростання складності аберацій: 48, XY, t (6; 22) (q14; q11.2), +15, +18 [17] / 50, idem, +9, +17 [4] / 51, idem, +9, +17, +21 [5] / 47, XY, +22 [10] / 46, XY, dup (3) (p24) [3] – три клони, що мають спільне походження, записані спочатку; потім записані незалежні клони по низхідній від аналізованого числа клітин з аномалією.

У текстах часто використовується поняття «модальне число» (modal number – mn), яке використовується для характеристики кількості хромосом в найбільш численній популяції клітин у пухлині, але не використовується в запису каріотипу. Крім звичайних термінів для опису плоїдності клітин (гаплоїдний – n, диплоїдний – 2n, триплоїдний – 3n, тетраплоїдний – 4n і т. д. набір хромосом) в онкоцитогенетиці також застосовуються такі терміни, як близькогаплоїдний, гіпогаплоїдний, гіпергаплоїдний тощо. Приставка «близько» означає те, що кількість хромосом не перевищує $mn+11$ і не менше $mn-11$ (m – коефіцієнт характеристики плоїдності, наприклад, m = 1 – гаплоїдний набір; m = 2 – диплоїдний набір хромосом і т. д., n = 23 хромосоми – гаплоїдний набір). Приставка «гіпо» позначає те, що кількість хромосом менше 23 для гаплоїдного набору. Для 2n і більш – число хромосом знаходиться в діапазоні від $mn-11$ до $mn-1$. Приставка «гіпер» позначає те, що число хромосом

знаходиться в діапазоні від $mn+1$ до $mn+11$. Терміни псевдогаплоїдний, псевдодиплоїдний і т. д. використовуються для опису еуплоїдних наборів хромосом за умови наявності структурних хромосомних аномалій або анеуплоїдій. На хромосомну аномалію, виявлену в каріотипі раніше, вказує латинська буква с (конституційний каріотип). Конституційний каріотип містить як спорадичні, так і вроджені хромосомні аномалії. Результати цитогенетичного аналізу аномалії записують за порядковим номером хромосом. Нормальний диплоїдний клон завжди записується в кінці каріотипу:

48, XY, +16, +18с – пухлина у хворого з трисомією хромосоми 18 і спорадичною трисомією по хромосомі 16;

47, XXXс, del (22) (q13.1) – пухлина у хворої з трисомією хромосоми X і спорадичною делецією хромосоми 22;

47, XY, +17, -21, +21с / 48, XY, +17, +21с / 47, XY, +21с – у хворого з трисомією 21 виявлена пухлина з трьома клонами: трисомія по хромосомі 17 і втрата додаткової хромосоми 21; трисомія хромосом 17 і 21; трисомія хромосоми 21.

Якщо в клітинах пухлини спостерігається втрата додаткової хромосоми при трисомії, то каріотип записується у такий спосіб: 46, XX, +13с, -13.

Конституційний каріотип записується на базі двох аналізів: перший – при постановці діагнозу вихідної хромосомної аномалії, другий – при цитогенетичному дослідженні клітин пухлини.

Термін «філадельфійська хромосома», часто вживаний в онкоцитогенетиці, використовується для опису дериватної хромосоми 22, що виникла внаслідок транслокації $t(9; 22)(q34; q11)$. Аббревіатура Ph (раніше Phi) може застосовувати в робочому порядку, але не в офіційному описі каріотипу, де рекомендується запис – $der(22) t(9; 22)(q34; q11)$. Схожим чином дериватна хромосома 9 позначається як $der(9) t(9; 22)(q34; q11)$.

Значення онкоцитогенетичних досліджень. Такі дослідження необхідні для ідентифікації хромосомних аномалій, які пов'язані з патогенезом злоякісності пухлин. Онкоцитогенетичний аналіз може

мати діагностичне та прогностичне значення для практичної онкології. Визначення кореляцій генотип-фенотип при ряді пухлин показало, що при анеуплоїдії, порівняно зі структурними хромосомними аномаліями або генними мутаціями, прогноз для хворого менш оптимістичний. Відомо, що хромосомна нестабільність сприяє хіміорезистентності пухлин. Однак, експерименти в області придушення активності білків, що беруть участь у мітотичній активності клітин пухлин, показали, що інгибування білків MAD2, BUBR1, а також BUBR1-кінази викликає апоптоз анеуплоїдних клітин пухлини. Висловлюється припущення про можливість терапії онкологічних утворень, пов'язаних з чисельними хромосомними аномаліями. Тому у найближчому майбутньому цитогенетична діагностика неоплазій може бути необхідною для коректного терапевтичного втручання при онкологічних захворюваннях.

Відомо, що каріотип ракових клітин відрізняється від нормального диплоїдного набору хромосом. Каріотип клітин пухлин характеризується винятковою гетерогенністю: від анеуплоїдії та структурних хромосомних аномалій до поліплоїдії з високим ступенем плідності ($8n$ і більше). Виявлення анеуплоїдії при диплоїдному, триплоїдному або тетраплоїдному каріотипі є найбільш імовірним для більшості неоплазій.

Характерними рисами каріотипу пухлин є наявність хромосомних аномалій, неспецифічність хромосомних перебудов та зміни хромосомного набору клітини. Каріотип пухлинних клітин може відрізнятися не тільки від нормальних соматичних клітин, але й від каріотипу інших клітин в одній популяції. Показано, що при одних неоплазіях спостерігаються характерні зміни каріотипу, тоді як при інших виявляється винятковий поліморфізм мінливості хромосомного набору клітини. Для каріотипу пухлин характерна відносна стабільність сегрегації хромосомних аномалій у популяції ракових клітин, яка може спостерігатися протягом декількох років. Збереження клітин з відповідними абераціями в організмі свідчить про не випадковий характер даних змін, а також селективну перевагу в поділі і проліферації клітин пухлини у порівнянні з нормальними

диплоїдними соматичними клітинами. Ці особливості клітин неоплазій також можуть бути причиною хіміо- та радіорезистентності.

Біологічне значення спорадичної зміни каріотипу ракових клітин полягає в тому, що досягається генетична гетерогенність популяцій клітин злоякісних новоутворень, наслідком якої є спрямована селекція та пристосування до умов навколишнього середовища. Отже, здатність до спорадичних змін геному клітин пухлин (на хромосомному і генному рівнях) слід розглядати як один з найважливіших аспектів для клінічних і молекулярних досліджень неоплазій.

При деяких онкологічних захворюваннях аналіз каріотипу може розглядатися як діагностичний тест, наприклад хронічний мієлоїдний лейкоз, який пов'язаний з так званою «філадельфійською» хромосомою (ранішні позначення – Ph або Phi), утвореною збалансованою транслокацією $t(9;22)(q34;q11.2)$ за участю генів *ABL* та *BCR*.

Враховуючи, що в клітинах пухлини, крім хромосомних аберацій, виявляються й інші генетичні порушення, малігнізація може бути пов'язана і з генними мутаціями, епігенетичними порушеннями, функціональними відхиленнями життєдіяльності клітини. Слід також відзначити, що при збалансованих транслокаціях в пухлинах причиною виникнення новоутворення, швидше за все, є порушення послідовності ДНК, пов'язане з генними мутаціями.

Нині мітотичні дефекти, результатом яких є чисельні хромосомні аномалії, розглядаються як основний механізм онкогенезу. У зв'язку з цим обґрунтовано припущення, що для низки неоплазій анеуплоїдія може бути наслідком якоїсь генетичної аномалії, що є причиною пухлини. Отже, онкоцитогенетичні дослідження необхідні не тільки для практичної онкології, але й для пошуків генетичних причин нерозходження хромосом у мітозі.

Можливості цитогенетичних досліджень в онкогематології

Останнім часом досягнуто значних успіхів у вивченні, розумінні біології та лікуванні гострого лімфобластного та мієлобластного

лейкозів, що дозволило підвищити ефективність лікування нововиявлених лімфобластних лейкозів у дітей та підлітків до 80 %, а мієлобластних лейкозів – до 50 %.

Гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ). До генетичних аномалій, пов'язаних із сприятливим прогнозом В-клітинного ГЛЛ, відноситься гіпердиплоїдія (>50 хромосом). Виняткова чутливість до хіміотерапії гіпердиплоїдних бластних клітин корелює з їхньою схильністю до апоптозу, який спостерігається при культивуванні *in vitro*, а також зі здатністю накопичувати після проведеного лікування високі концентрації метотрексату та його активного поліглютаматного метаболіту. Гіпердиплоїдні клітини зазвичай мають 3-4 копії хромосоми 21, яка містить ген, що кодує фермент тетрагідрофолатредуктазу. Підвищена експресія цього білка-транспортера, обумовлена ефектом «дози гена», може бути причиною підвищеного внутрішньоклітинного накопичення поліглютаматів метотрексату в зазначених клітинах.

Зі сприятливим прогнозом пов'язана транслокація $t(12;21)(p13;q22)$, що супроводжується утворенням злитого гена *TEL/AML*, за рахунок поєднання двох генів зазначених хромосом. Бластні клітини, в яких експресується ген *TEL/AML*, високочутливі до L-аспарагінази *in vitro*, хоча причини цього не з'ясовані. Сприятливий прогноз цих генотипів простежується лише у тих клінічних дослідженнях, де застосовувалися протоколи інтенсивної хіміотерапії, які включають аспарагіназу. Показано, що трисомії хромосом 4, 10 або 17 пов'язані з незалежним сприятливим прогнозом. Трисомія хромосом 4 або 18 вказують на сприятливий прогноз ГЛЛ. Причини цього залишаються нез'ясованими.

Той чи інший прогноз є відносним поняттям. Наприклад, пре-B варіант ГЛЛ з наявністю $t(1;19)$, що є причиною утворення злитого гена *E2A/PBX1*, пов'язаний з поганим прогнозом при лікуванні стандартним протоколом хіміотерапії. Однак, при призначенні сучасної інтенсивної хіміотерапії ця хромосомна аномалія стає одним з найсприятливіших прогностичних факторів при даному підтипі ГЛЛ з показником віддаленої виживаності 90 %. Іншим прикладом є

пацієнти з $t(9;22)(q34;q11)$ при злитому гені *BCR/ABL*, а також з $t(4;11)$, що є причиною утворення злитого гена *MLL/AF4*, які входять до групи високого ризику.

Діагностичне та прогностичне значення тих чи інших хромосомних аберацій, виявлених у лейкозних клітинах, залежить від віку пацієнтів. Наприклад, гіпердиплоїдія є найчастішою у дітей з ГЛЛ і спостерігається у 25 % випадків усіх дитячих ГЛЛ. У дорослих пацієнтів гіпердиплоїдні ГЛЛ становлять лише 6 % від усіх випадків ГЛЛ. Гіподиплоїдія (<46 хромосом) виявлена в лейкозних клітинах в 5 % випадків ГЛЛ як у дорослих, так і у дітей. Випадки Ph-позитивного ГЛЛ у дорослих або підлітків мають поганий прогноз, тоді як у дітей віком від 1 до 9 років з низьким рівнем лейкоцитів у момент постановки діагнозу прогноз сприятливий. При ГЛЛ з $t(4; 11)$, що є причиною утворення злитого гена *MLL/AF4*, діти віком до року мають значно гірший прогноз, ніж діти віком від 1 року і старше. В основі феномену вік-залежного прогнозу, ймовірно, лежать вторинні генетичні зміни, ступінь диференційованості клітин, що зазнали малігнізації, особливості фармакокінетики у конкретного пацієнта або поєднання цих факторів.

Таким чином, ці дані свідчать про те, що онкогенні події (ініціація канцерогенезу), пов'язані з хромосомними перебудовами, недостатні самі по собі для розвитку лейкемії, і повинні кооперуватися з додатковими мутаціями, які ушкоджують механізми проліферації і виживання клітин і викликають лейкоз.

Оцінка відповіді на терапію має власне прогностичне значення, оскільки відповідь на проваджувану хіміотерапію визначається багатьма факторами, включаючи фармакогенетичну різноманітність хворих та генетичні зміни лімфобластних лейкозних клітин. Методи оцінки мінімальної залишкової хвороби в кістковому мозку (цитофлюориметричне виявлення лейкозних клітин з певним імунофенотипом; цитогенетичний, FISH і ПЛР аналіз клональних хромосомних або генних перебудов) характеризуються значно більшою специфічністю та чутливістю порівняно з морфологічним аналізом бластних клітин. Пацієнти, що досягли імунологічної або

молекулярної ремісії на рівні $<0,01\%$ ядерних клітин кісткового мозку в кінці індукційної терапії, мають більш сприятливий прогноз. Пацієнти з ознаками морфологічної ремісії в кістковому мозку по закінченні шеститижневої терапії, але з мінімальною залишковою хворобою, що визначається імунологічними або генетичними методами на рівні 1% або більше, мають високий ризик рецидиву і можуть розглядатися як кандидати на аlogenну трансплантацію кісткового мозку. У теперішній час для визначення рівня мінімальної залишкової хвороби майже у всіх клініках використовується як проточна цитометрія, так і FISH або ПЛР, а отримані кількісні дані використовують для розподілу пацієнтів за групами ризику. Інтенсифікація терапії у пацієнтів з високим рівнем мінімальної залишкової хвороби значно підвищує ймовірність сприятливого результату.

Гострий мієлобластний лейкоз (ГМЛ). Гемопоез – складний процес проліферації стовбурових та комітованих кровотворних клітин та їх диференціювання у формені елементи крові, який регулюється експресією генів – факторів транскрипції, які активують або інгібують цей процес на різних стадіях. Порушення регуляції експресії цих генів і функціональний дисбаланс, що розвивається в результаті нього, відповідальні за злоякісну трансформацію цих гемопоетичних клітин. Генетичні аномалії, що виявляються в лейкозних клітинах, дозволяють ідентифікувати безліч генів, які мають вирішальне значення в лейкомогенезі. В даний час є все більше доказів того, що ГМЛ є результатом не однієї генетичної аберації.

Для встановлення діагнозу ГМЛ зазвичай використовують комплекс морфологічних, цитохімічних, імунофенотипових і цитогенетичних даних. Однак, якщо в діагностиці ГЛЛ провідна роль у визначенні варіанта лейкозу належить імунофенотипуванню, то в діагностиці ГМЛ – морфологічному і цитохімічному дослідженням.

Для гострого промієлоцитарного лейкозу характерна транслокація $t(15;17)(q22;q12-21)$, яка зустрічається із частотою 8-10 % серед усіх випадків ГМЛ. Це реципрокна транслокація за

участю гена *PML*, локалізованого в ділянці q22 хромосоми 15, і гена *RARα*, розташованого в ділянці q21 хромосоми 17. Введення в протоколи хіміотерапії цього варіанту лейкозу препарату ATRA (all transretinoic acid) значно покращило прогноз як у дітей, так і у дорослих. Показник довгострокового безрецидивного виживання у дітей з гострим промієлоцитарним лейкозом у поєднанні з t(15;17)(q22;q12–21) досягає 90 % і вище. Велике значення має FISH або молекулярно-генетична детекція продукту транскрипції гена *PML/RARα* для моніторингу ефективності проваджуваної терапії і можливої її зміни. Присутність вищевказаного продукту транскрипції після закінчення курсу хіміотерапії з великою ймовірністю свідчить про можливість швидкого рецидиву.

Транслокація t(8;21)(q22;q22) і відповідний химерний ген *AML1/ETO* виявляються в 12-15 % випадків ГМЛ. Ген *AML1* кодує білок CBFα2 – компонент гетеродимеру CBF, який відіграє ключову роль у регуляції транскрипції кількох генів. Утворення злитого гена *AML1/ETO* призводить до розриву між субодиницями цього транскрипційного чинника і, як наслідок, порушення експресії низки генів. Введення в практику інтенсивної хіміотерапії високих доз цитарабіну значно покращує прогноз для дітей та дорослих пацієнтів із цим цитогенетичним варіантом ГМЛ. П'ятирічна безрецидивна стадія хвороби у дітей із ГМЛ у поєднанні з t(8;21)(q22;q22) перевищує 80 %. За деякими даними, при цьому варіанті ГМЛ втрата статевої хромосоми в каріотипі лейкозних клітин на тлі терапії, що проводиться, асоційована з особливо сприятливим прогнозом.

Такі хромосомні аберації, як inv16(p13;q22) або t(16;16)(p13;q22), зустрічаються в 6-8 % випадків ГМЛ і призводять до злиття гена *CBFβ*, локалізованого в ділянці q22 хромосоми 16, та гена *MUN11*, розташованого в ділянці p13 хромосоми 16. Молекулярний дефект, що з'являється в результаті утворення химерного гена, аналогічний тому, що спостерігається при t(8;21)(q22;q22), оскільки зачіпає той самий транскрипційний фактор CBF. Проте, ці цитогенетичні варіанти ГМЛ відрізняються за клінічною картиною та біологічними властивостями лейкозних

клітин, характером відповіді на терапію і показником ранньої смертності. Рівень ранньої смертності при ГМЛ при наявності *inv16(p13;q22)* або *t(16;16)(p13;q22)* і лейкозних клітин досягає 10 %. Використання протоколів хіміотерапії з високими дозами цитарабіну при цьому цитогенетичному варіанті ГМЛ дозволило збільшити п'ятирічну безрецидивну виживаність до 76 %. Присутність продукту транскрипції злитого гена *CBFβ/MYH11* після закінчення індукції та консолідації пов'язана з високим ризиком рецидиву.

Хромосомні перебудови із залученням ділянки 11q23 спостерігаються в 15 % випадків ГМЛ. Більшість цих аномалій є результатом реципрокної транслокації хромосом з точками розриву в гені *MLL*, локалізованого в ділянці q23 хромосоми 11, і одним з 50 генів-партнерів. Приблизно половина цих випадків має транслокацію *t(9;11)(p21-22;q23)*. Останні дослідження показали, що діти з ГМЛ і з *t(9;11)(p21-22;q23)* мають значно більш сприятливий прогноз, ніж діти з ГМЛ та іншими хромосомними перебудовами із залученням ділянки q23 хромосоми 11. П'ятирічна безрецидивна виживаність у першій групі дітей склала 65 %, а у другій – лише 24 %. Ймовірно, що подібні результати досягнуті завдяки введенню високих доз цетопозиду та кладрибіну.

Цитогенетичне дослідження клітин кісткового мозку при гострому мегакаріобластному лейкозі (FAB M7) часто виявляє безліч хромосомних аномалій. У деяких випадках виявляється специфічна транслокація – *t(1;22)(p13;q13)*, що призводить до утворення злитого гена *RBM15/MKL1*. Виявлення транслокації *t(1;22)(p13;q13)* має особливе діагностичне значення, оскільки діагностика M7 варіанта ГМЛ скрутна. Гострий мегакаріобластний лейкоз характерний майже виключно для раннього дитячого віку і рідко виявляється у дітей старше трьох років. Цікаво, що цей варіант лейкозу становить майже 50 % всіх випадків, що зустрічаються у дітей із синдромом Дауна. Пацієнтів із синдромом Дауна та з гострим мегакаріобластним лейкозом об'єднує наявність мутації гена *GATA1*. Прогноз при цьому варіанті ГМЛ несприятливий і пацієнти потребують гетеротрансплантації кісткового мозку.

Таким чином, в даний час можна з впевненістю стверджувати, що цитогенетичні дослідження в онкогематології відіграють визначальну роль для розробки тактики лікування та прогнозування хворих з такими захворюваннями, як гострий лімфобластний і гострий мієлобластний лейкози. На закінчення необхідно також відзначити, що перспективи розвитку онкогематології з позиції поліпшення надання допомоги хворим безпосередньо пов'язані з розробками в галузі молекулярної онкоцитогенетики.

Питання для контролю

1. Які хромосомні аномалії виникають при неоплазіях?
2. Чому хромосомна нестабільність сприяє хіміорезистентності пухлин?
3. Які основні риси варіації хромосомного набору при різних пухлинах?
4. Які хромосомні аберації є специфічними при певних злоякісних утвореннях?
5. Наведіть характеристику клітинних клонів, асоційованих з сприятливим / несприятливим виходом гострого лімфобластного лейкозу.
6. Наведіть характеристику клітинних клонів при мінімальної залишкової хвороби при гострому лімфобластному лейкозі.
7. Наведіть характеристику клітинних клонів при гострому мієлобластному лейкозі.

Зразки завдань для практичних занять з теми 6

1. Розшифруйте запис:
46,XY,t(9;22)(q34;qll)[2]/47,XY,+12,t(9;22)(q34;qll)[16]
2. Розшифруйте запис:
46,XX,t(2;3)(p24;p23)[10]/47,XXX,dup(5)(q22)[7]
/49,XX,+8,+8,+8[4]/46,XX[10].

Список літератури

Базова

1. Багацька Н. В. Цитогенетика людини. – Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2014. – 164 с.
2. Macgregor C. H., Varley J. M. Working with animal chromosomes. 2nd Edition, John Wiley & Sons, New York. An Essential Guide to Cytogenetics / N. Norris and C. Miller (Editors). Nova, 2018. – 165 p.
3. ISCN 2016 - An International System for Human Cytogenomic Nomenclature / Ed. McGovan-Jordan J., Simons A, Schmid M. Karger. – 2016. – 139 p.
4. Malik K. P. C. Principles of Cytogenetics. New India Publishing agency-NIPA, 2019. – 196 p.
5. Miller K., Madan K The new ISCN 2016. European Cytogeneticists Association Newsletter. – 2016. 38: – P. 15-17.
6. The Principles of Clinical Cytogenetics / Eds S. L. Gersen, M. B. Keagle / Humana Press, Totowa, NJ, – 2005. – 596 p. DOI <https://doi.org/10.1385/1592598331>

Допоміжна

1. Молекулярна генетика та технології дослідження генома. Навчальний посібник.- Стереотипне видання / М. І. Гіль, О. Ю. Сметана, О. І. Юлевич, Є. В. Біркар, І. Ю. Горбатенко; за ред. М. І. Гіль. – Херсон: Олді-Плюс, 2019. – 320 с.
2. Molecular Biology of the Cell / B. Alberts [et al.]. – 4-th edition. N.-Y, 2007.
3. Fong L. M. H. Medical Cytogenetics: 1st Edition. – CRC Press, 2000. – 728 p.

Інформаційні ресурси

Наукові журнали:

Журнал Академії медичних наук України (<http://journal.amnu.gov.ua/>),
Цитология и генетика (<http://cytgen.com/>),
Cell (<http://www.cell.com/cell/>),
Cell Biology (<http://www.nature.com/scitable/topic/cell-biology-13906536>),
Chromosoma (<http://www.springer.com/life+sciences/cell+biology/journal/412>),
Cytogenetic and Genome Research
(<https://www.karger.com/Journal/Guidelines/224037>)
Euphytica (<http://link.springer.com/journal/10681>),
European Journal of Medical Genetics (<https://www.journals.elsevier.com/european-journal-of-medical-genetics>)
Genome (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>),
Hereditas (<https://hereditasjournal.biomedcentral.com/>),
Heredity (<http://www.nature.com/hdy/index.html>),
J. Cytology (<http://www.jcytol.org/>),
Theoretical and Applied Genetics (<http://link.springer.com/journal/122>)

Веб-сайти:

Cell Structure and Functions: Lipid Membranes. ([http://scidiv.bcc.ctc.edu/rkr/ Biology 101/lectures/pdfs/](http://scidiv.bcc.ctc.edu/rkr/Biology101/lectures/pdfs/)).

European Center of Biotechnology Information (<http://scrs.ebi.ac.uk>. National Center of Biotechnology Information (NCBI) [http:// www.ncbi.nlm. gov/omim](http://www.ncbi.nlm.gov/omim).

[http:// www. pathology.dn.ua. / lecturesw / Immune Anormal](http://www.pathology.dn.ua/lecturesw/ImmuneAnormal).

<https://ghr.nlm.nih.gov>

<https://rarediseases.org>

<https://www.orpha.net>

OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) – An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders <http://omim.org/>

Навчальне видання

ЦИТОГЕНЕТИЧНА ДІАГНОСТИКА СПАДКОВОЇ ПАТОЛОГІЇ ЛЮДИНИ

Електронні методичні рекомендації

до самостійної роботи

**для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня навчання
зі спеціальностей 014 «Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)»,
091 «Біологія», 162 «Біотехнології та біоінженерія»,
226 «Фармація, промислова фармація»**

Електронне практичне видання

Укладач

Січняк Олександр Львович

В авторській редакції

**Затвердж. авт. 31.03.2023. Шрифт Times New Roman.
Системні вимоги: операційна система сумісна з програмним
забезпеченням для читання файлів формату PDF.
Обсяг 1,3 МБ. Зам. № 2564.**

Видавець і виготовлювач

**Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: (048) 723 28 39, e-mail: druk@onu.edu.ua**