

... ГЕНЕТИКА ... GENETICS ...

УДК 575.1:616-056.7-055.25

Цитогенетическая характеристика девочек с патологией полового созревания Н.В.Багацкая

Государственное учреждение «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН» (Харьков, Украина)
Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Украина)
iozdp@triolan.net.ua, n_bagatskaya@mail.ru

В работе представлена цитогенетическая характеристика больных с различными нарушениями половой системы (синдромом Шерешевского-Тернера, задержкой полового развития). Среди обследованных больных у 33,3% девочек была установлена классическая форма синдрома Шерешевского-Тернера с кариотипом 45,X; у 60,6% – мозаичная форма синдрома с кариотипом mos 45,X/46,XX; у 6,1% девочек – кариотип с изохромосомой 46,X[i(Xq)]. У одной девочки с задержкой полового развития диагностирован кариотип 46,X (del(Xq-)). Установлен сниженный уровень спонтанного мутагенеза у девочек с различными вариантами синдрома Шерешевского-Тернера (5,44%) в сравнении с частотой аберраций у девочек с задержкой полового развития (11,97%).

Ключевые слова: девочки, синдром Шерешевского-Тернера, задержка полового развития, дисгенезия гонад, кариотип, аберрации.

Цитогенетична характеристика дівчат із патологією статевого розвитку Н.В.Багацька

У роботі надана цитогенетична характеристика хворих з різними порушеннями статевої системи (синдромом Шерешевського-Тернера, затримкою статевого розвитку). Серед обстежених хворих у 33,3% дівчат була встановлена класична форма синдрому Шерешевського-Тернера із кариотипом 45,X; у 60,6% – мозаїчна форма синдрому із кариотипом mos 45,X/46,XX; у 6,1% дівчаток – кариотип з ізохромосою 46,X[i(Xq)]. У однієї дівчинки із затримкою статевого розвитку діагностовано кариотип 46,X (del(Xq-)). Установлено знижений рівень спонтанного мутагенезу у дівчат із різними варіантами синдрому Шерешевського-Тернера (5,44%) порівняно з частотою аберрацій у дівчат із затримкою статевого розвитку (11,97%).

Ключові слова: дівчата, синдром Шерешевського-Тернера, затримка статевого розвитку, кариотип, аберрації.

Cytogenetic description of delayed puberty girls N.V.Bagatskaya

Cytogenetic characteristics of patients with various disorders of reproductive system such as Shereshevsky-Turner syndrome and delayed puberty have been presented in the paper. Among the examined patients in 33,3% of girls the classical form of Shereshevsky-Turner syndrome with 45,X karyotype has been diagnosed. In 60,6% of patients mosaic form of the syndrome with mos 45,X/46,XX karyotype has been found out. 6,1% of girls had 46,X[i(Xq)] karyotype with isochromosome 46,X[i(Xq)]. The karyotype 46,X(del(Xq-)) has been diagnosed in one girl with delayed sexual development. The lower level of spontaneous mutagenesis has been found in girls with various forms of Shereshevsky-Turner syndrome (5,44%) as compared with aberration rate in girls with delayed puberty (11,97%).

Key words: girls, Shereshevsky-Turner syndrome, delayed puberty, karyotype, aberrations.

Введение

Особое внимание генетиков привлекает проблема патологии половой системы у лиц женского пола (Беникова и др., 1993). Среди данной группы болезней особое место принадлежит синдрому Шерешевского-Тернера (СШТ), который, в отличие от других хромосомных болезней, характеризуется широким спектром нарушений кариотипа. Известно, что в основе данного синдрома лежит изменение числа либо структуры половых хромосом, что, в свою очередь, приводит к врожденному нарушению половой дифференцировки, а нередко и к различным соматическим заболеваниям, так как вместо присущих женскому организму XX-половых хромосом в организме чаще всего присутствует лишь одна X-хромосома. В связи с этим возникает неполный хромосомный набор (кариотип 45,X) (Вяткина, 2003). Установлено, что классическая форма синдрома (моносомия X) регистрируется у 40–60 %, структурные перестройки X-хромосом – у 5–10 % пациенток с СШТ. Остальные случаи (30–40 %) представлены мозаичными вариантами анеуплоидии по нормальной или aberrантной X-хромосоме (Бочков, 2001). По данным разных авторов, частота синдрома существенно колеблется (1 случай на 2000–3000 родившихся девочек) (Козлова и др., 1996). Известно, что среди всех беременностей в 98% случаев плоды с кариотипом 45,X спонтанно abortируются. Анализируя причины образования кариотипа 45,X, следует отметить, что это явление в большей части случаев обусловлено нерасхождением половых хромосом в 1-м делении мейоза (в результате чего в зиготу попадает только одна X-хромосома), реже – нарушениями митоза на ранних стадиях дробления зиготы. При этом у девочек с мозаицизмом встречаются различные клоны клеток (45,X/46,XX, 45,X/47,XXX); иногда наблюдаются транслокации между X-хромосомой и аутосомами (Гуськов и др., 2001; An International System ..., 1995). Наряду с численными изменениями кариотипа при синдроме СШТ также возможны различные aberrации X-хромосомы: изохромосома по длинному плечу [(Xq)], в редких случаях – изохромосома по короткому плечу [i(Xp)]; концевая делеция длинного плеча [del(Xq-)] или делеция всего длинного плеча (Xq-), концевая делеция короткого плеча [del(Xp)] или делеция всего короткого плеча (Xp-); концевая перестройка X-хромосомы [46,X,ter rea(X;X)]; кольцевая X-хромосома [46X,r(X)]. Если aberrантная X-хромосома инактивируется, aberrация может вообще не проявляться в фенотипе или проявляется не полностью, что можно объяснить присутствием нормальной X-хромосомы (эффект дозы гена). Нередко aberrации X-хромосомы сочетаются с мозаицизмом, т.е. наличием клона клеток 45,X (45,X/46X,i(Xp)). Повторный риск рождения ребенка с синдромом Шерешевского-Тернера невелик, за исключением тех случаев, когда у одного или обоих родителей имеется наследуемая X-аутосомная транслокация или когда мать несет клон клеток 45,X (Zinn et al., 1998). По данным (Вяткина, 2003), у пациенток с установленной моносомией X частота «скрытого» мозаицизма варьирует от 5% (при использовании классического цитогенетического метода) до 15% (при использовании метода FISH). В случаях «скрытого» мозаицизма по X-хромосоме дополнительная клеточная линия 46,XX или 46,X,+der(X) присутствует в 5–8 % лимфоцитов и 12–22 % клеток буккального эпителия. Автор, используя также и метод ПЦР, установила, что X-хромосома при кариотипе 45,X в 87% случаев имеет материнское происхождение и в 13% – отцовское (Вяткина, 2003). Синдром характеризуется множественными пороками развития скелета и внутренних органов, отклонениями фенотипа, нередко бесплодием (Binder et al., 2001). Аномалия одного или нескольких детерминант пола, поломка комплексного механизма, «запускающего» половое развитие, могут привести к анатомическим и функциональным отклонениям от нормы, к различным клиническим формам нарушений половой дифференцировки, которые не столь редки, как принято считать. Различные хромосомные aberrации, генные мутации, способствуя нарушению гормонального баланса или изменению рецепции гормонов в эмбриональном периоде, могут быть причинами врожденных аномалий полового развития. Врожденные нарушения половой дифференцировки также могут быть обусловлены и различными эмбриотоксическими факторами (интоксикацией, инфекцией, травмами, лекарственными средствами), нарушением гормонального баланса у беременной в ответственные за формирование полового тракта периоды эмбрионального развития (Blair, 2001; Binder et al., 2001).

Учитывая вышеизложенное, целью исследования было изучение цитогенетических особенностей у девочек с различными нарушениями полового развития.

Материалы и методы исследования

Цитогенетический анализ был проведен по стандартному методу (Зерова-Любимова, Горovenko, 2003) у 45 девочек 12–18 лет, обследованных в ГУ «Институт охраны здоровья детей и

подростков НАМН» по поводу нарушения полового созревания. Окрашивание препаратов хромосом проводили с использованием GTG-техники. В отдельном случае использовался метод FISH в интерфазных ядрах и на метафазных хромосомах. Метафазные пластинки изучались с помощью бинокулярного микроскопа фирмы Leica CME (Австрия), окуляр 15×, объектив 100×, бинокулярная насадка 1,25×. Учитывали все aberrации хроматидного (одиночные фрагменты), хромосомного (парные фрагменты, кольцевые хромосомы, дицентрические хромосомы и др.) и геномного (полиплоидные клетки, преждевременное расхождение центромер) типов.

Выражаем благодарность Ю.В.Гонтарь за помощь в проведении метода FISH.

Статистическую обработку полученных данных проводили стандартным методом (Атраментова, Утевская, 2008) с определением основных статистических характеристик (\bar{x} , m) в пакете программы «SPSS Statistics 17,0».

Результаты и обсуждение

Цитогенетический анализ, проведенный у девочек с патологией половой системы, показал, что среди всех пациенток, поступивших на обследование в институт, диагноз СШТ был подтвержден у 33 девочек (73,3%). Из двенадцати девочек с задержкой полового развития (ЗПР) нормальный женский кариотип (46,XX) установлен у одиннадцати (24,4%), а у одной девочки (2,2%) – женский кариотип с делецией длинного плеча X-хромосомы (46,X(Xq–)) (рис. 1, 2) (четвертая группа).

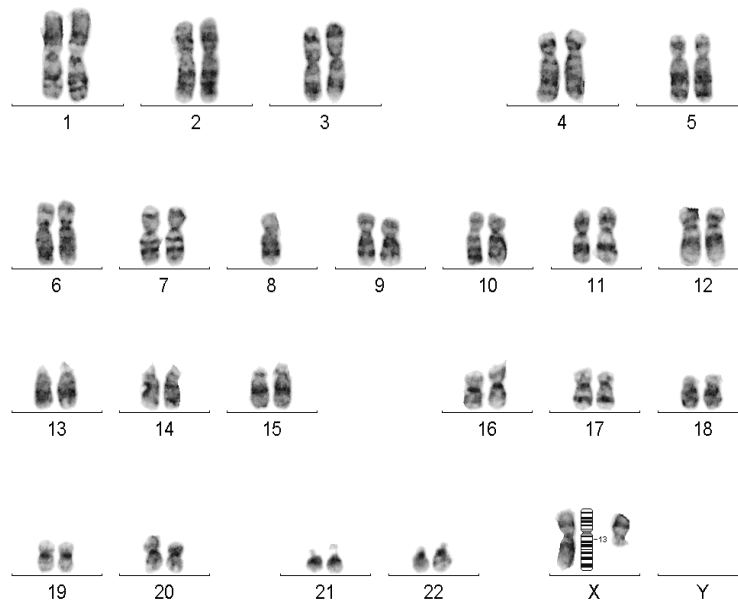


Рис. 1. Метафазная пластинка девочки с задержкой полового развития, кариотип 46,X (del(Xq–)), GTG-окраска

Из группы обследованных пациенток с патологией полового созревания у одиннадцати девочек (33,3%) был подтвержден диагноз СШТ (кариотип 45,X) (первая группа); у 20 – мозаичная форма СШТ (кариотип 45,X/46,XX; 60,6%) (вторая группа); у двух (6,1%) – женский кариотип с изохромосомой 46,X [i(Xq)] (третья группа).

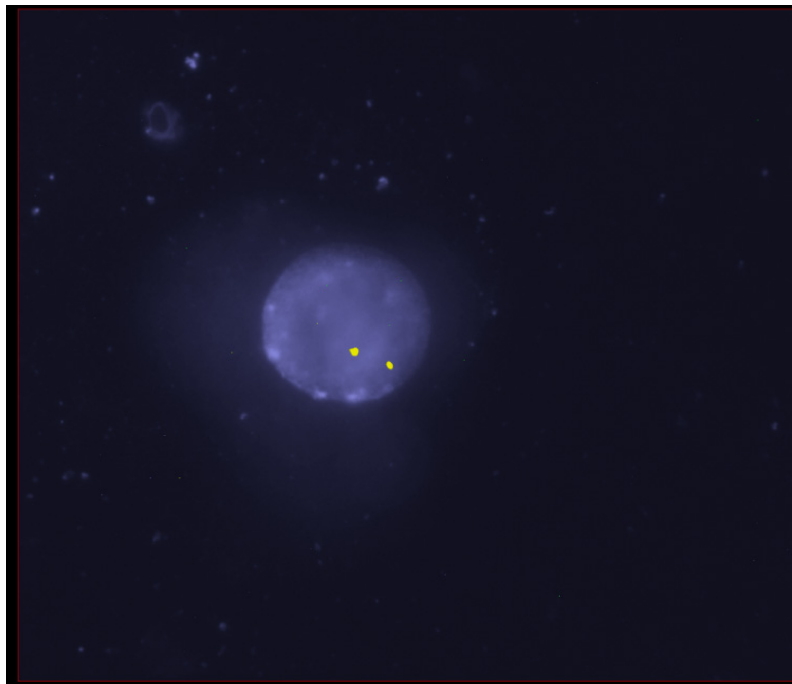


Рис. 2. Интерфазная цитогенетика с использованием метода FISH (X-хромосомы окрашены желтым цветом; делетированная X-хромосома имеет меньший размер) у девочки с задержкой полового развития, кариотип 46,X (del(Xq-))

Наряду с нарушениями в количестве и структуре X-хромосом, у этих девочек наблюдались aberrации аутосом. Так, спонтанный уровень aberrаций хромосом в общей группе девочек с подтвержденным диагнозом Шерешевского-Тернера составил 5,44%. Следует отметить, что спонтанная частота aberrаций хромосом у девочек с ЗПР значительно превышала спонтанный уровень aberrаций в общей группе девочек с СШТ (11,97% против 5,44%, $p < 0,01$). Частота aberrаций хромосомного типа в среднем в трех группах больных с СШТ соответствовала 4,44%, что не превышало частоту хромосомных aberrаций у девочек четвертой группы (5,13%; $p > 0,05$). Вместе с тем, частота нарушений хроматидного типа в общей группе больных с СШТ составила 2,11%, что было в 2,5 раза меньше, чем в четвертой группе больных (5,34%; $p < 0,05$).

Исследуя частоту aberrаций хромосом изолированно в каждой группе больных, мы установили, что у девочек с кариотипом 45,X спонтанный мутагенез составил – 6,76%; у больных с мозаичной формой СШТ – 4,39%; у двух пациенток с изохромосомой X – 9,84%. У пациентки с ЗПР с делецией длинного плеча X-хромосомы частота хромосомных aberrаций соответствовала 3,0%, причем частота aberrаций хроматидного (одиночные фрагменты) типа – 2,0%, а хромосомного (парный фрагмент) типа – 1,0%.

Сравнивая частоту aberrаций хроматидного типа, которые являются маркерами химического воздействия, у девочек с классическим синдромом Шерешевского-Тернера, мозаичной формой, изохромосомой X и ЗПР, следует отметить, что статистически значимые различия были установлены только в частоте одиночных фрагментов у пациенток второй и четвертой групп ($p < 0,01$).

Aberrации хромосомного типа значительно чаще регистрировались у девочек с ЗПР (6,1% против 2,2% у пациенток с мозаичным синдромом СШТ; $p < 0,01$), причем за счет превалирования частоты парных фрагментов (4,3% и 1,3% соответственно; $p < 0,01$). Говоря о причинах возникновения парных хромосомных фрагментов, можно предположить, что их возникновение, с одной стороны, может эффективно индуцироваться в лимфоцитах периферической крови химическими мутагенами, которые повреждают ДНК на пресинтетической стадии клеточного цикла; а с другой, в результате трансформации хроматидных одиночных фрагментов, образовавшихся в клетках-предшественниках, которые перешли в дочерние лимфоциты в ходе митотических делений лимфоцитпрекурсоров (Андреев, Эйдельман, 2001). При культивировании зрелых лимфоцитов с унаследованными от

клеток-предшественников хроматидными фрагментами эти aberrации могут удваиваться в фазе репликации ДНК и на стадии митоза будут представлять уже парные фрагменты (Пілінська та ін., 2004).

Среди aberrаций геномного типа преждевременное расхождение центромер в два раза чаще регистрировалось у девочек с регулярным СШТ (0,59% против 0,29% у девочек с мозаичной формой синдрома; $p < 0,05$). Частота полиплоидных клеток также была в два раза выше у девочек с регулярным СШТ (0,88% против 0,44% у девочек с мозаичным синдромом; $p < 0,05$). Явление полиплоидии обусловлено эндоредупликацией хромосом в клетках-предшественниках и может возникать вследствие формирования анафазных дицентрических мостов с последующим слиянием митотически заблокированных дочерних ядер и удвоением хромосомного набора по всем aberrациям хромосомного набора в следующем митозе. При нормальном течении следующих митозов лимфоцитпрекурсоров с эндоредуплицированными хромосомами этот вид геномных нарушений может трансформироваться в полиплоидию в зрелых первичных лимфоцитах (Бочков с соавт., 2001; Пілінська та ін., 2004). Ряд обменных aberrаций необходимо интерпретировать как aberrации смешанного типа, при которых в одной из хромосом наблюдается только повреждение одной хроматиды, а в другой хромосоме, которая вовлечена в обмен, регистрируется повреждение обеих хроматид (Захаров с соавт, 1982; Чеботарев, 2001). Вполне вероятно, что расстройства метаболизма, которые возникают у больных с различной патологией, в том числе и хромосомной, также могут способствовать формированию перестроек хромосом. Таким образом, анализ частоты и типов хромосомных aberrаций при различных аномальных кариотипах позволил определить статистически значимые различия в частоте некоторых мутаций у девочек с различными нарушениями половой системы.

Выводы

1. Среди девочек с нарушениями половой системы у 33,3% больных был установлен синдром Шерешевского-Тернера с кариотипом 45,X; у 60,6% – мозаичная форма синдрома $mos\ 45,X/46,XX$; у 6,1% – кариотип с изохромосомой 46,X [i(Xq)]. Среди больных с задержкой полового развития у одной пациентки был установлен кариотип 46,X (del(Xq-)).
2. Спонтанный уровень aberrаций хромосом в общей группе больных с синдромом Шерешевского-Тернера составил 5,44%, причем у девочек с кариотипом 45,X – 6,76%; с мозаичной формой синдрома – 4,39%; у пациенток с изохромосомой X – 9,84%.
3. Частота хромосомных нарушений в группе девочек с задержкой полового развития значительно превышала частоту аналогичных нарушений в группе девочек с различными вариантами синдрома Шерешевского-Тернера (11,97% против 5,44%, $p < 0,01$).

Список литературы

- Андреев С.Г., Эйдельман Ю.А. Пути обменных взаимодействий повреждений, приводящих к внутривнутрихромосомным aberrациям, зависящих от структуры интерфазных хромосом // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. – Т.41, №5. – С. 469–474. /Andreyev S.G., Eydel'man Yu.A. Puti obmennykh vzaimodeystviy povrezhdeniy, privodyashchikh k vnutrikhromosomnym aberratsiyam, zavisyashchikh ot struktury interfaznykh khromosom // Radiats. biologiya. Radioekologiya. – 2001. – Т.41, №5. – С. 469–474./
- Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии: учебник для студ. высш. зав. – Горловка: Ліхтар, 2008. – 248с. /Atramentova L.A., Utevskaia O.M. Statisticheskiye metody v biologii: uchebnik dlya stud. vyssh. zav. – Gorlovka: Likhtar, 2008. – 248s./
- Беникова Е.А., Бужиевская Т.И., Сильванская Е.М. Генетика эндокринных заболеваний. – Киев: Наукова думка, 1993. – 400с. /Benikova Ye.A., Buzhiyevskaya T.I., Sil'vanskaya Ye.M. Genetika endokrinnnykh zabolevaniy. – Kiyev: Naukova dumka, 1993. – 400s./
- Бочков Н.П. Клиническая генетика. – М.: Гэотар-Мед, 2001. – 448с. /Bochkov N.P. Klinicheskaya genetika. – M.: Geotar-Med, 2001. – 448s./
- Бочков Н.П., Чеботарев А.Н., Катосова Л.Д. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека // Генетика. – 2001. – Т.37, №4. – С. 549–557. /Bochkov N.P., Chebotarev A.N., Katosova L.D. Baza dannykh dlya analiza kolichestvennykh kharakteristik chastoty khromosomnykh aberratsiy v kul'ture limfotsitov perifericheskoy krovi cheloveka // Genetika. – 2001. – Т.37, №4. – С. 549–557./
- Вяткина С.В. Комплексная характеристика нарушений половых хромосом у пациенток с синдромом Шерешевского-Тернера. Дисс ... канд. биол. наук: 03.00.15 / генетика. – СПб., 2003. – 157с. /Vyatkina S.V.

Kompleksnaya kharakteristika narusheniy polovykh khromosom u patsiyentok s sindromom Shereshevskogo-Ternera. Diss ... kand. biol. nauk: 03.00.15 / genetika. – SPb., 2003. – 157s./

Гуськов Е.П., Шкурат Т.П., Полиенко А.Я. Клинический полиморфизм синдрома Шерешевского-Тернера у жителей Ростовской области и Северного Кавказа (1978–1998) // Генетика. – 2001. – Т.37, №6. – С. 817–824. /Gus'kov Ye.P., Shkurat T.P., Poliyenko A.Ya. Klinicheskiy polimorfizm sindroma Shereshevskogo-Ternera u zhitel'ey Rostovskoy oblasti i Severnogo Kavkaza (1978–1998) // Genetika. – 2001. – T.37, №6. – S. 817–824./

Захаров А.Ф., Бенюш В.А., Кулешов Н.П., Барановская Л.И. Хромосомы человека (Атлас) АМН СССР. – М.: Медицина, 1982. – 264с. /Zakharov A.F., Benyush V.A., Kuleshov N.P., Baranovskaya L.I. Khromosomy cheloveka (Atlas) AMN SSSR. – M.: Meditsina, 1982. – 264s./

Зерова-Любимова Т.Е., Горovenko Н.Г. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: методичні рекомендації. – К., 2003. – 25с. /Zerova-Lyubimova T.E., Gorovenko N.G. Tsitogenetychni metody doslidzhennya khromosom lyudy: metodychni rekomendatsii. – K., 2003. – 25s./

Козлова С.И., Семанова Е., Демикова Н.С., Блинникова О.Е. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование. – М.: Практика, 1996. – 305с. /Kozlova S.I., Semanova Ye., Demikova N.S., Blinnikova O.Ye. Nasledstvennyye sindromy i mediko-geneticheskoye konsul'tirovaniye. – M.: Praktika, 1996. – 305s./

Пілінська М.А., Дибський С.С., Шеметун О.В., Талан О.О. Рівень спонтанних хромосомних аберацій у дітей з екологічно чистого регіону України, встановлений при цитогенетичному аналізі рівномірно та диференційно забарвлених метафазних хромосом // Цитология и генетика. – 2004. – №6. – С. 45–48. /Pilins'ka M.A., Dybs'kyi S.S., Shemetun O.V., Talan O.O. Riven' spontannykh khromosomnykh aberatsiy u ditey z ekologichno chystogo regionu Ukrainy, vstanovleny pry tsitogenetychnomu analizi rivnomirno ta dyferentsiyno zabarvlenykh metafaznykh khromosom // Tsytologiya i genetika. – 2004. – №6. – S. 45–48./

Чеботарев А.Н. Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека // Вестн. РАМН. – 2001. – Т.37, № 2. – С. 64–69. /Chebotarev A.N. Zakonomernosti khromosomnoy izmenchivosti somaticheskikh kletok cheloveka // Vestn. RAMN. – 2001. – T.37, № 2. – S. 64–69./

An International System for Human Cytogenetic Nomenclature: high-resolution banding / Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature. – Basel: Karger, 1995. – P. 5–21.

Binder G., Eggermann T., Enders H. Tall stature, gonadal dysgenesis, and stigmata of Turner's syndrome caused by a structurally altered X chromosome // J. Pediatr. – 2001. – Vol.138, №2. – P. 285–287.

Blair J. Phenotype, ovarian function, and growth in patients with 45,X/47,XXX Turner mosaicism: implications for prenatal counseling and estrogen therapy at puberty // J. Pediatr. – 2001. – Vol.139, №5. – P. 724–728.

Zinn A.R., Tonk Y.S., Chen Z. Evidence for a Turner syndrome locus or loci at Xp1 1.2-p22.1 // Am. J. Hum. Genet. – 1998. – Vol.63, №6. – P. 1757–1766.

Представлено: Л.К.Пархоменко / Presented by: L.K.Parkhomenko

Рецензент: А.В.Некрасова / Reviewer: A.V.Nekrasova

Подано до редакції / Received: 14.06.2012