

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Біологічний факультет

Кафедра генетики і цитології

До захисту допущено

Кафедрою генетики і цитології протокол № _____ від _____

завідувач кафедри _____
(підпис)

Наталя ВОЛКОВА
(ім'я, прізвище)

«11» грудня 2025 р.

Кваліфікаційна робота
здобувача другого (магістерського) рівня вищої освіти

**ОЦІНКА ІНДИВІДУАЛЬНОЇ МІНЛИВОСТІ РОЗМІРНИХ ПАРАМЕТРІВ
ХРОМОСОМ 1, 2, 3 ТА X У ЖІНОК З НОРМАЛЬНИМ КАРІОТИПОМ І
ПРИ МОЗАЇЦИЗМІ 45,X/46,XX**
(назва роботи)

Спеціальність (спеціалізація) 091 Біологія та біохімія

(код та найменування спеціальності; спеціалізації спеціальності - за наявності)

Освітня програма

Генетика
(назва освітньої програми)

Виконавець _____
(підпис)

Дарія ЛАЗОРЕНКО
(ім'я, прізвище)

Науковий керівник _____
(підпис)

Наталя ВОЛКОВА
(ім'я, прізвище)

Науковий консультант _____
(підпис)

Наталія БАГАЦЬКА (д.б.н., професор)
(ім'я, прізвище)

Харків – 2025

ЗМІСТ

ВСТУП.....	3
Розділ 1. ОГЛЯД І АНАЛІЗ НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ	5
1.1. Характеристика каріотипу людини у нормі	5
1.1.1. Історія та визначення каріотипу	5
1.1.2. Методи забарвлення хромосом.....	6
1.2. Розрахункові індекси, що використовуються для характеристики каріотипу та окремих хромосом.....	11
1.2.1. Морфологія метацентричних, субметацентричних та акроцентричних хромосом.....	11
1.2.2. Центромерний індекс та його значення в класифікації хромосом.....	13
1.3. Зв'язок хромосомних аберацій із індексами.....	17
1.3.1. Аналіз хромосомних аберацій.....	17
1.3.2. Структурні хромосомні мутації	17
1.3.3. Чисельні хромосомні мутації	26
1.3.4. Мозаїцизм.....	29
1.3.5. Синдром Шерешевського-Тернера.....	29
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	33
Розділ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ	40
ВИСНОВКИ	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45

ВСТУП

У цій роботі проводиться оцінка індивідуальної мінливості розмірних параметрів хромосом 1, 2, 3 та X у жінок з нормальним каріотипом (46,XX) і при мозаїцизмі 45,X/46,XX, щоб дізнатися, наскільки варіює виміряний центромерний індекс індивідуально для кожної особи і загалом в досліджуваній вибірці, з метою встановити, чи існує між ними відмінність. Все це важливо знати для подальших досліджень у галузі цитогенетики людини, щоб актуалізувати для даного часу параметри генетично здорових дівчаток та хворих на мозаїчну форму синдрому Шерешевського-Тернера, що в подальшому може бути використано для підтвердження чи спростування наявності хромосомних аберацій завдяки вимірюванню центромерного індексу.

Теоретична та практична значущість отриманих результатів полягає в тому, що отримана більш детальна характеристика зазначених хромосом у нормі та при мозаїцизмі. За допомогою застосованого підходу можна визначити хромосому серед інших та її гомолога.

Огляд літератури включає обговорення характеристики каріотипу людини, докладний опис підходів, які використовують для вимірювання параметрів хромосом, а також інформацію щодо зв'язку хромосомних аберацій з вимірювальним індексом.

Метою роботи є характеристика розмірних параметрів хромосом 1, 2, 3 та X у жінок з нормальним каріотипом і при мозаїцизмі 45,X/46,XX та оцінка варіабельності центромерного індексу для цих хромосом.

Задачі:

1. Опанувати техніку виготовлення препаратів метафазних хромосом людини.
2. Зібрати вибірку фотографій метафазних хромосом генетично здорових жінок та з мозаїчною формою синдрому Шерешевського-Тернера.

3. Проаналізувати метафазні пластинки та візуально визначити на кожній хромосомі 1, 2, 3 та X.
4. Здійснити виміри довжин хромосом 1, 2, 3 та X та їх плечей на фото метафазних пластинок. Розрахувати центромерний індекс.
5. Проаналізувати мінливість центромерного індексу для зазначених хромосом методами варіаційної статистики.

Робота була виконана на базі лабораторії медичної генетики ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків» та на базі кафедри генетики і цитології біологічного факультету ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Автор вдячна зав. лабораторії медичної генетики ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків» Багацькій Наталії Василівні за надану можливість опанувати методики і набрати матеріал для практичної частини роботи на базі лабораторії.

Розділ 1. ОГЛЯД І АНАЛІЗ НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Характеристика каріотипу людини у нормі

1.1.1. Історія та визначення каріотипу

Каріотип – це сукупність морфологічних ознак повного хромосомного набору, що представлений у клітинах людини. При аналізі каріотипу головним чином звертають увагу на загальну кількість хромосом, їх розмір та форму, при цьому до найбільш важливих умов відносяться числова та структурна стабільність хромосом, у процесі формування фенотипічно нормального організму з індивідуальним розвитком [2].

У 1956 р. шведські вчені – Дж. Тіо і А. Леван та англійські вчені – Ч. Форд і Дж. Хамертон виявили, що ядро кожної соматичної клітини організму генетично здорової людини містить в собі 46 хромосом [2;37]. Дж. Тіо та А. Леван удосконалили методику отримання препаратів хромосом, скоротивши час обробки гіпотонічним розчином і ввівши колхіцин для руйнування ниток веретена поділу. Завдяки дослідженню 261 метафазної пластинки, вони і дізналися кількість хромосом у каріотипі людини. Ч. Форд та Дж. Хамертон, так само не гаяли часу, і за допомогою препаратів отриманих з тестикул 3-х чоловіків похилого віку, встановили, що диплоїдне число хромосом людини дорівнює 46 [2].

За рахунок цих дослідів, розпочалася нова ера розвитку клінічної цитогенетики, яка в свою чергу, проводила хромосомний аналіз за допомогою методу каріотипування, хоча лише через три роки було описано перший аномальний каріотип людини. Метод каріотипування базується на морфологічних характеристиках хромосом, а саме на даних про розмір хромосоми та розташування центромери [2;25]. Він використовується при виявленні хромосомних аномалій, як кількісного так і якісного характеру, аналізуючи метафазні або прометафазні препарати хромосом, зробивши правильний запис та символізацію. Аналізувати препарати хромосом потрібно на стадії метафази або прометафази, так як хромосоми добре помітні, достатньо потовщені, коротші за розміром, вільно

розташовані одна від одної та знаходяться в одній площині. Завдяки цим факторам, хромосоми поділяють на групи у порядку від найбільшої до найменшої за довжиною, а у аутосомних пар хромосом ще і за нумерацією, та позначаються великими літерами англійського алфавіту від А до G [2;17].

Каріотип генетично здорової людини складається з 46 хромосом, з них 44 хромосоми або 22 пари, відносяться до аутосомних хромосом (нестатевих хромосом), і одна пара статевих хромосом (X та Y). Статеві хромосоми розрізняються у чоловіків та жінок. У нормі жінка має дві X-хромосоми, що позначаються для статі XX, а чоловік одну X, та одну Y хромосоми, і позначають як стать XY [2;36]. Кожна хромосома повинна мати гомолога, тобто їй подібну пару, але у випадку чоловіків X та Y не несуть однакові гени, лише невелику ділянку подібності, і не вважаються цілковито гомологічними, бо Y-хромосома набагато коротша і містить набагато менше генів, чого не скажеш про жінок, у яких X-хромосоми дійсно утворюють гомологічну пару [41]. Як статеві, так і аутосомні пари хромосом, людина успадковує від батьків, а саме одну половину від батька, іншу від матері. Гамети (сперматозоїди та яйцеклітини) складаються з гаплоїдного набору хромосом, тобто містять в собі 23 хромосоми. В нормі яйцеклітина включає в себе лише X-хромосому, тоді як частина сперматозоїдів є носієм X-хромосоми, а інша – Y-хромосоми [2]. З цього можна зробити висновок, що чоловічі статеві клітини визначає стать майбутньої дитини. Тобто, під час злиття яйцеклітини зі сперматозоїдом, який несе в собі X-хромосому, народиться дівчинка, а якщо сперматозоїд буде містити в собі Y-хромосому, буде хлопчик.

1.1.2. Методи забарвлення хромосом

Аналізувати каріотип людини найкраще після спеціального забарвлення, яке проводять під час поділу клітин, коли хромосоми максимально щільно спіралізовані [2]. Взагалі, виділяють два основних методи забарвлення, за допомогою яких можна ідентифікувати хромосоми: гомогенне (рутинне) та диференційне. Гомогенне забарвлення вважається стандартним тому, що воно

забарвлює хромосому цілком однорідно завдяки барвнику Романовського-Гімза. Завдяки такому забарвленню, можна дізнатися лише кількість хромосом, виявити розташування центромери, виміряти параметри кожного плеча та всієї хромосоми загалом, віднести кожну до своєї групи, та підтвердити чи спростувати присутність чисельних і деяких легко розпізнавальних структурних аберацій. Нажаль, за допомогою гомогенного забарвлення чітко визначити гомолога до кожної хромосоми неможливо, за винятком чотирьох пар аутосом (1, 2, 3 та 16) і однієї статевої Y-хромосоми, тому у таких випадках використовують диференційне забарвлення [38]. Починаючи з 1968 року і по 1970 рік, вчені працювали над розробкою методу диференційного забарвлення хромосом, за допомогою якого можна ідентифікувати всі хромосоми людини та детально проаналізувати кожну [34]. В медичній генетиці його використовують для встановлення конкретного захворювання людини у випадках, коли при аналізі хромосомного препарату з гомогенним забарвленням виявили аберацію. Також, цей метод забарвлення препаратів ще називають бендінгом, через їх поперечну смугастість (бенди), яка індивідуальна для кожної хромосоми. У гомологічних хромосом, бенди є ідентично забарвленими, окрім випадків з поліморфними районами, в яких зосереджені різні варіанти одного і того ж гена. Алельний поліморфізм був виявлений у багатьох видів рослин, тварин та навіть в одному випадку у людини, і є нормальною ознакою, яка вважається кроком до видоутворення, тому не викликає діагностичного значення [2;22].

Існує 6 методів диференційного забарвлення, які вперше ввів Т. Касперссон у 1969 році, що дозволяють виділити світлі та темні смуги по довжині хромосоми: Q-, G-, C-, R-, T- і Ag- [2;26;37]. Щоб провести ці методи, потрібно використати спеціальні барвники, які попередньо термічно обробили або виконати обробку за допомогою розчинів протеолітичних ферментів (трипсин, пепсин тощо) або солей (2xSSC) [2].

- Метод диференційного забарвлення хромосом, який був розроблений історично першим, має назву Q-метод. Його застосовують з використанням флуоресцентного барвника квінакрину. Досліджуючи хромосоми під люмінесцентним мікроскопом, можна спостерігати лінійну неоднорідність флуоресценції за довжиною, тобто так звані Q-сегменти. Основним завданням методу є швидке визначення Y-хромосоми, у тому числі і мутацій пов'язаних з нею. У нормі людина, яка є носієм Y-хромосоми, має на дистальному кінці довгого плеча (q) генетично неактивну ділянку з посиленою флуоресценцією, розміри якої можуть бути різними [2].

- Найпоширенішим методом вважається G-забарвлення, хоча він надає таку саму смугастість, що і Q-метод. Спочатку препарат обробляють ферментом (найчастіше, трипсином), який здатний зруйнувати пептидні зв'язки, а потім фарбують знайомим нам вже барвником Романовського-Гімза, який в свою чергу надає такий самий ефект, як і квінакрин. Метод Q-забарвлення не завжди можна застосувати, бо для дослідження хромосом потрібен люмінесцентний мікроскоп, чого не скажеш про G-метод, в якому використовують світловий мікроскоп. Ще однією перевагою G-забарвлення є більша чутливість, таким чином займаючи місце Q-забарвлення в цитогенетичному аналізі, та отримуючи назву «золотого стандарту». За допомогою методу виявляють аберації та неправильну сегментованість хромосом [2;37].

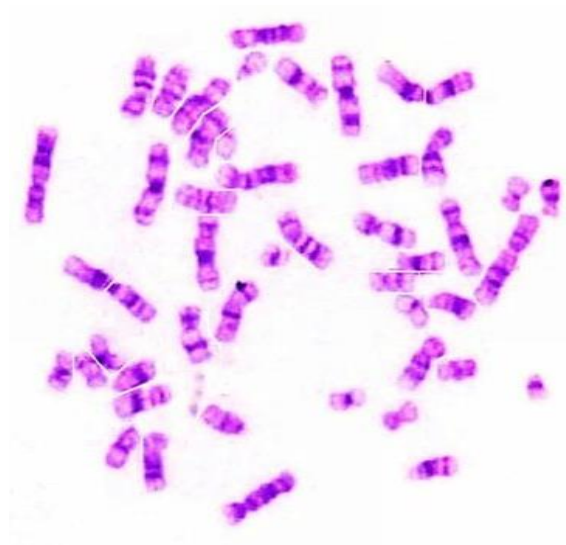


Рис. 1.1. Метафазна пластинка генетично здорової жінки забарвлена G-методом

- У 1970 році, М. Пардью та Дж. Галл детально дослідили метод С-забарвлення з додаванням барвника Романовського-Гімза, визначивши, що у всіх хромосом фарбується центромерний район, і у деяких (1, 9, 16, короткі плечі акроцентричних хромосом, та довгі плечі Y-хромосоми) – гетерохроматин вторинних перицентромерних перетяжок [2;37]. Метод використовують для ідентифікування хромосом з прецентромерними інверсіями, декількома центромерами (дицентричні), прецентромерним гетерохроматином у маркерних районах, та на наявність в каріотипі Y-хромосоми [2].

- R-метод називають зворотним бендінгом, так як забарвленні сегменти розташовані протилежно методам G- та Q-. Застосовують його в тих самих випадках, що і G-метод. У R-методі використовують різні барвники (найчастіше, барвник Романовського-Гімза або акридиновий оранжевий), які забарвлюють термінальні кінці хромосом та R-позитивні райони, котрим, найчастіше, властиво мати хромосомні перебудови та фенотипові аномалії [2;37].

- У T-методі барвником виступає акридиновий оранжевий, який забарвлює теломерні (кінцеві) ділянки хромосом, надаючи можливість їх аналізувати. Саму методику використовують після отримання результатів про

стандартне забарвлення хромосом, щоб переконатися у достовірності результату [2].

- При Ag-методі, срібло вибірково забарвлює ділянки окремих хромосом, ідентифікуючи ядерцеві організатори, структурні мутації хромосом з сателітними районами, та поліморфізми супутників у акроцентричних хромосом [2].

Для того щоб скласти каріотип людини, перш за все потрібно підрахувати кількість хромосом з однієї клітини, потім визначити для кожної свою групу, виміряти центромерний індекс та підбираючи за бендами (при диференційному забарвленні) гомологічну пару хромосоми, зрештою, розставити їх у правильній послідовності.

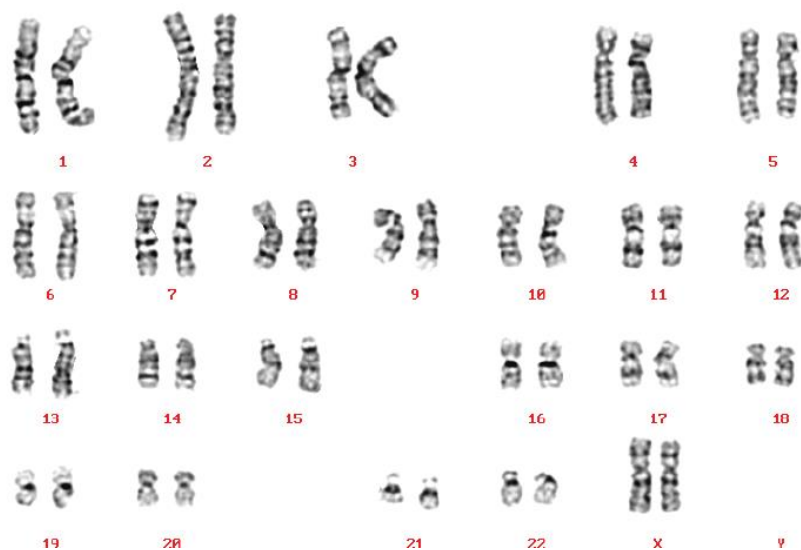


Рис. 1.2. Каріограма генетично здорової жінки – 46, XX (диференційне забарвлення) [29]

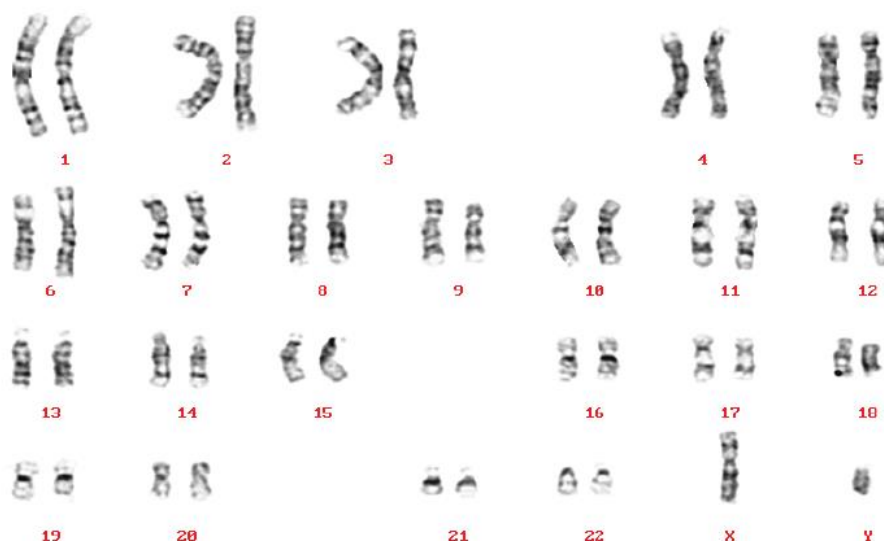


Рис. 1.3. Каріограма генетично здорового чоловіка – 46, XY (диференційне забарвлення) [30]

1.2. Розрахункові індекси, що використовуються для характеристики каріотипу та окремих хромосом

1.2.1. Морфологія метацентричних, субметацентричних та акроцентричних хромосом

Рівномірне забарвлення препаратів хромосом, надає можливість аналізувати їх спираючись на параметри, здебільшого на форму, яка залежить від розташування первинної перетяжки. Вона з'єднує пару сестринських хроматид (дві копії молекули ДНК, які виникли у результаті реплікації) утворюючи місце звуження хромосоми. Також, в області первинної перетяжки знаходиться центромера, яка формує кінетохор для приєднання мікротрубочок веретена поділу під час мітозу і мейозу [2;47].

Каріотип людини класифікують за трьома типами хромосом, які визначають за розташуванням первинної перетяжки та центромери: метацентричні, субметацентричні та акроцентричні [2].

- Метацентричні хромосоми мають однаковий розмір плечей, бо центромера розташовується посередині. Такі хромосоми по формі схожі на

літеру «X» [2;20]. Зі всього каріотипу до метацентриків відносяться 1, 3, 16, 19, 20 аутосомні хромосоми.

- Центромера субметацентричних хромосом розташовується вище ніж у метацентричних, розподіляючи плечі на коротке (p) та довге (q) [2;20]. Субметацентриками по аутосомам є 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 18 хромосоми, а по статевим X-хромосома.

- У акроцентричних хромосом, центромера знаходиться на стільки високо, що коротке плече майже не видно. Воно має на багато менший розмір та зміст генетичного матеріалу, порівняно з довгим плечем. До акроцентриків відносяться аутосомні хромосоми – 13, 14, 15, 21, 22, та статеві Y-хромосома. На верхівці коротких плечей деяких акроцентриків локалізуються супутники, які формують ядерце в клітинах, що не діляться. До складу ядерця входить велика кількість копій рРНК. Супутники акроцентричних хромосом тримаються на вторинній перетяжці [2;20].

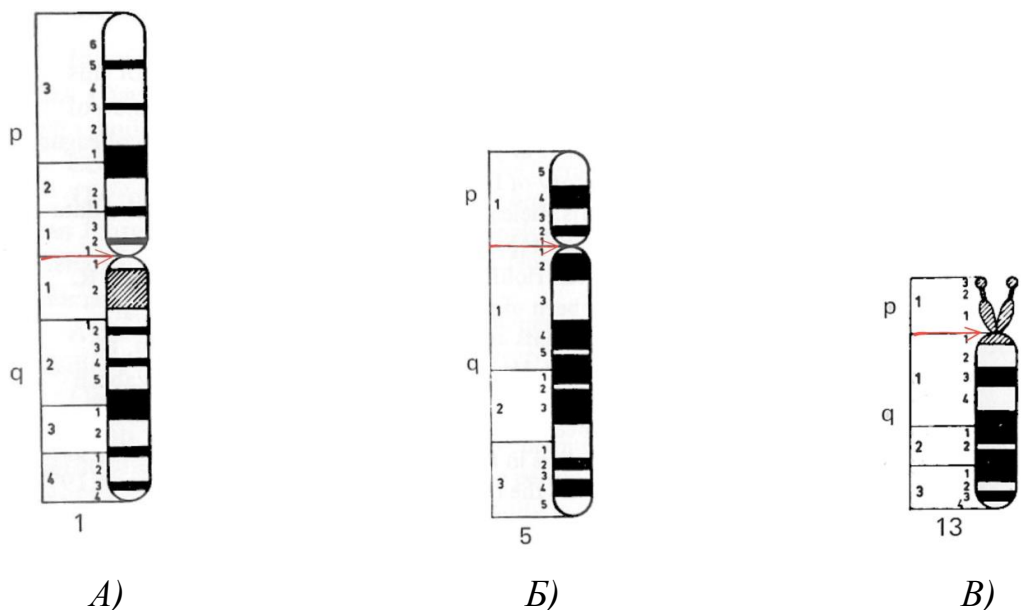


Рис. 1.4. Морфологія хромосоми: А) метацентрична, Б) субметацентрична, В) акроцентрична; p – коротке плече; q – довге плече; червоними стрілками позначено центромеру [39]

1.2.2. Центромерний індекс та його значення в класифікації хромосом

У нормі, хромосома повинна мати одну центромеру розташовану на своєму місті, яке відповідає розрахунковому індексу. Для вимірювання метафазних хромосом, здебільшого, використовують центромерний індекс, який обчислюється у %. Окрім центромерного індексу існує абсолютна довжина, яка розраховується у мкм, та відносна довжина – у %. Завдяки центромерному індексу, встановлюється величина хромосоми у співвідношенні довжини короткого плеча до довжини всієї хромосоми, яка береться за 100 %. Таке вимірювання найбільше підходить для статистичного аналізу даних вимірних параметрів хромосом [2;31]. У метацентричних хромосом центромерний індекс дорівнює 50 % (коротке плече відповідає довжині довгого плеча), тоді як у субметацентричних хромосом він складає менше 50 %, а у акроцентричних взагалі малий тому, що центромера розташовується дуже близько до кінця хромосоми [5]. Центромерний індекс є важливим показником, який відповідає не тільки за форму, але і за розмір хромосоми, особливо до періоду створення диференційного забарвлення. Під час аналізу гомогенно забарвлених хромосом, може здатися не тільки візуально, а й при вимірюванні центромерного індексу, що гомологи відрізняються між собою [14]. Однак, це є нормою, особливо між іншими метафазними пластинками, оскільки відмінність спостерігається через різний ступінь конденсації хромосом.

Весь процес конденсації відбувається поступово під час поділу клітини, починаючи з кінця стадії профазі. На першому етапі, хроматинове волокно, що складається з нуклеосом, формує петлі, що виходять із центрального каркасу (білкових комплексів конденсину). Конденсин існує двох типів: конденсин I та конденсин II. Розташовується конденсин I далі від центру, і допомагає створювати додаткові петлі для петлеподібної структури, ущільнюючи каркас. Конденсин II знаходиться ближче до центру, формуючи з ним щільний зв'язок, беручи на себе відповідальність за структуру хромосоми. Вплив конденсину I не є таким значним на жорсткість хромосоми, але при цьому він виконує функцію поздовжнього

ущільнення, роблячи її структуру компактнішою. Зменшення кількості білка конденсину II у клітині, з тих чи інших причин, призводить до несприятливого механічного впливу на хромосому. Це може пом'якшити та деформувати форму хромосоми. За наявності тих же умов для конденсину I, вплив на хромосому буде менш помітний. Стрессова ситуація, така як механічне пошкодження, усувається ферментом топоізомеразу II, розрізаючи, зшиваючи або розплутуючи пошкоджені ділянки ДНК [45].

Таким чином, при збільшенні кількості конденсину відбувається ущільнення та позовжне зменшення хромосоми [45]. Під час мітозу, хроматин поступово конденсується, стаючи щільнішим в профазі, досягаючи максимального ступеню спіралізації в метафазі. Завдяки цьому, найкраще аналізуються середньо конденсовані метафазні хромосоми [15].

При використанні методу диференційного забарвлення, кожна хромосома набуває індивідуального сегментування по всій довжині, тобто чергуються темні та світлі лінійні ділянки, що дозволяє правильно їх розпізнавати. Найкраще аналізувати це забарвлення на великих хромосомах (1, 2 та 3), бо вони мають чітко пофарбовані бенди. На хромосомах меншим розміром смуги видно гірше, так як вони виділяються лише на ранній стадії профазі, коли аналізувати хромосоми неможливо. Темнозабарвлені ділянки хромосом накопичують гетерохроматин, який власне і дає такий ефект. Бенди на плечі поділяються на кілька відрізків, які пронумеровані починаючи від центромери і до теломери. Теломера є кінцевим фрагментом хромосоми, яка виконує функцію захисту від пошкоджень ДНК [2;16].

Завдяки центромерному індексу, хромосоми людини (з 1 по 46) поділяються на 8 груп, з них перші 7 аутосомні (від А до G), і остання – статеві (XX або XY). Розглянемо кожну групу докладніше:

- Перша група А містить в собі найбільші за розміром хромосоми – 1, 2 та 3 [16]. Хромосома 1 (11 мкм) – це найбільша хромосома каріотипа, яка є метacentричною, та іноді має в перичентромерному районі довгого плеча

вторинну претяжку. Центромерний індекс залежить від того, на скільки конденсована сама по собі хромосома. Вона може бути як розтягнута, так ущільнена. За стандартом прийнято вважати, що центромерний індекс 1 хромосоми складає 0,48 – 0,49. Хромосома 2 (10,8 мкм) – за розміром майже така сама як і 1 хромосома, але є субметацентричною. Центромерний індекс становить 0,38 – 0,40. Хромосома 3 (8,3 мкм) – так само, як і 1 хромосома є метацентричною, але менша за розміром. Її центромерний індекс дорівнює 0,45 – 0,46 [2].

- Друга група В складається з 4 та 5 хромосом (кожна по 7,7 мкм), яких неможливо відрізнити одну від одної при гомогенному забарвленні. Вони відносяться до великих субметацентричних хромосом, та мають однаковий показник центромерного індексу 0,24 – 0,30 [2;16].

- Третя група С є найбільшою за кількістю хромосом (з 6 по 12). Вона складається з середньо субметацентричних хромосом, які представлені у різних розмірах [16]. Найбільшими з групи є 6 та 7 хромосоми (7,2 – 6,8 мкм). З них більш рівноплечою є 7 хромосома. Раніше до групи С відносилися статеві Х-хромосома, але на сьогоднішній день її відокремили до окремої групи статевих хромосом. Розмір 8 і 9 (5,8 мкм) хромосом практично однаковий, але 8 хромосома є більш рівноплечою, а у 9 хромосоми наявна постійна вторинна перетяжка, яка локалізується на тому ж місці, що і у 1 хромосоми. Розмір 10, 11 та 12 хромосом частково різняться (приблизно 5,7 мкм). Хромосома 11 є найбільш рівноплічною серед них. Кожна хромосома має свій центромерний індекс: 10 хромосома – 0,33; 11 хромосома – 0,40; 12 хромосома – 0,33 [2].

- Четверта група D включає в себе 13, 14 та 15 хромосоми (4,2 мкм). Вони відносяться до великих акроцентричних хромосом. Оскільки хромосоми дуже схожі між собою, важко підібрати гомолога без диференційного забарвлення. У такому випадку гомогенного забарвлення недостатньо. Інколи супутники

формується на короткому плечі у всіх трьох хромосом. Центромерний індекс у кожної з хромосом варіює від 0,14 до 0,24 [2;16].

- П'ята група Е представлена 16, 17 та 18 хромосомами, які різняться за розмірами. Хромосома 16 (3,6 мкм) є метацентричною, маючи на довгому плечі вторинну перетяжку [2]. Хромосоми 17 та 18 належать до субметацентриків, але 18 (3,2 мкм) хромосома має менший розмір, порівняно з 17 (3,5 мкм) хромосомою. Центромерний індекс хромосом варіює у діапазоні 0,26 – 0,40 [2;16].

- До шостої групи F відносяться малі метацентричні хромосоми 19 і 20 (2,9 мкм), яким складно ідентифікувати гомолога гомогенним забарвленням, так як вони подібні між собою. Забарвлюючи препарати диференційно, можна спостерігати як у 19 хромосоми зафарбовується у темний колір центромера, а у 20 хромосоми по краях плечі. Їх центромерний індекс складає 0,36 – 0,46 [2;16].

- Останньою групою аутосомних хромосом є G. До неї входять 21 та 22 хромосоми, які є малими акроцентричними хромосом [16]. Хромосома 21 (2,3 мкм) представлена, як найменша хромосома каріотипу, що інколи формує супутники на короткому плечі. Супутники також може формувати і 22 (2,8 мкм) хромосома, але вона має трохи більший розмір, ніж 21 хромосома. Центромерний індекс цих хромосом становить 0,13 – 0,33 [2].

- Група статевих хромосом включає в себе X- та Y-хромосоми. X належить до субметацентричних хромосом. В обох плечах X-хромосоми наявні бенди, забарвлені у темний колір, чого не скажеш про центромеру, яка представлена безбарвною ділянкою. Центромерний індекс X-хромосоми, подібний індексу 11 хромосоми (приблизно 0,40), а довжина практично співпадає з 6 та 7 хромосомами (7,2 – 6,8 мкм). Візуально X хромосому складно ідентифікувати без диференційного забарвлення. Полегшити ситуацію може вимірювання параметрів хромосом, порівнявши їх із загальноприйнятою нормою. Єдина акроцентрична хромосома, яка не формує супутників є Y-

хромосома (2,3 мкм). Вона має такий самий розмір, що і 21 хромосома. Її центромерний індекс дорівнює 0,26 [2].

Усі вищеперелічені хромосоми можуть набувати змін внаслідок впливу мутації на організм людини.

1.3. Зв'язок хромосомних аберацій із індексами

1.3.1. Аналіз хромосомних аберацій

Хромосомні аберації (або мутації) впливають по-різному на каріотип, змінюючи аутосомні та статеві хромосоми структурно або чисельно. Страждати від цього може як одна хромосома, так і декілька, викликаючи генетичні захворювання [18;35]. За науковими даними, хромосомні мутації спостерігаються приблизно у 1,5% новонароджених дітей [2]. Хромосомні аберації утворюються в передімплантаційний, постнатальний та пренатальний періоди, коли порушується процес поділу зародкових чи соматичних клітин [2;35]. Гаметні мутації спостерігаються в усіх клітинах організму людини, тоді як постзиготні мутації виявляються лише у деяких клітинах, через формування мозаїцизму [2].

1.3.2. Структурні хромосомні мутації

Центромерний індекс кожної хромосоми індивідуальний, тому вимірюють його на хромосомах зі структурними мутаціями. Найчастіше, структурні хромосомні аберації з'являються у результаті нерівного міжхромосомного обміну фрагментами або кількох розривів, що виникли через порушення ферментативності [35]. Наявність невеликої кількості нестабільних хромосомних аберацій (приблизно 1-3%, а інколи до 6%, на 100 метафаз) вважається нормою [40]. Поява їх може бути спричинена різними стресовими факторами, наприклад: тяжке перенесення хвороби, вплив радіаційного фону та середовищних факторів, а також при зменшенні кількості фолієвої кислоти в організмі [33;40]. Знизити ризик виникнення нових пошкоджень можна за допомогою відновлення втраченої кількості вітамінів групи В та фолієвої кислоти [33]. Структурні мутації містять в

собі безліч типів складних хромосомних аномалій, що робить їх найрізноманітнішою групою. До них належать делеції, інверсії (перичентричні та парацентричні), дуплікації, ізохромосоми, транслокації (реципрокні та робертсонівські), інсерції та кільцеві хромосоми. За правилами цитогенетичних лабораторій, при виникненні в каріотипі людини однієї з таких структурних мутацій, запис починають з номера хромосоми, далі пишеться символ короткого "p" або довгого "q" плеча, і наостанок номер ділянки та номер сегмента [2].

Типи структурних мутацій поділяються на збалансовані та незбалансовані. При збалансованих мутаціях генетичний матеріал не видаляється і не додається, завдяки цьому здебільшого фенотипово не проявляється, за винятком розривів у функціонально важливих частинах хромосоми [1;2]. Батьки, які є носіями збалансованої хромосомної мутації, можуть утворювати гамети з незбалансованим хромосомним набором. Якщо в процесі запліднення така гамета бере участь, швидше за все, ембріон матиме незбалансований набір хромосом. При такому розкладі, його генетичний матеріал буде дублюватися або видалятися, призводячи до тяжких захворювань, що супроводжуються вродженими вадами розвитку [2].

Делеція (скорочено del) – це видалення фрагменту хромосоми, яке відбувається термінально або інтерстиціально. Під час термінальної делеції відривається один фрагмент розташований ближче до кінця хромосоми, скорочуючи плече. При наступному поділі клітини, відірваний ацентричний фрагмент втрачається. Інтерстиціальна делеція спричиняє два внутрішньохромосомних розриви, які призводять до летального результату через втрату функціонально важливої ділянки. Існує ще один тип делеції – мікроделеція, при якій хромосома втрачає відносно невеликий фрагмент, завдяки чому має шанс на життєздатність [2;24].

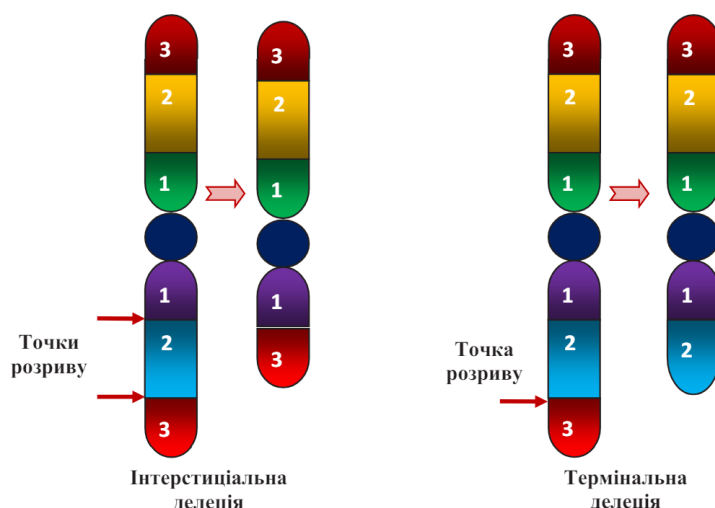


Рис. 1.5. Інтерстиціальна та термінальна делеції [7]

Практично всі хромосоми мають делецію на короткому або довгому плечі, за винятком акроцентричних хромосом (13, 14, 15, 21 та 22), у яких розрив відбувається лише на довгому плечі [7].

Захворювань пов'язаних з делецією величезна кількість, але найпоширенішими є: синдром Вольфа-Хіршхорна (делеція 4p), синдром котячого лемету (делеція 5p), синдром Ді Джорджа (мікроделеція 22q11.2), синдром Вільмса (мікроделеція 7q11.23), синдроми Прадера-Віллі та Ангельмана (мікроделеція 15q11-q13) [2;7]. Найрідкіснішими вважаються синдром делеції 1p36, мікроделеція 1q21.1, синдром делеції 2q37, синдром делеції 3p та синдром мікроделеції 3q29 [8;9;11-13].

Синдром делеції 1p36 в хромосомі 1 видаляє з короткого (p) плеча частину p36 генетичного матеріалу. У більшості хворих на цей синдром, видаляється кінцевий фрагмент короткого плеча з теломерою. Іноколи розрив доходить до теломери, не захоплюючи її. І тільки невелика кількість населення має складні перебудови. Симптоми проявляються у кожної людини по-різному, залежно від того, які ділянки генетичного матеріалу були видалені. Здебільшого вражено мозок, серце та скелет [8].

Мікрodelеція 1q21.1 проявляється у кожній клітині хромосоми 1, розриваючи невелику ділянку q21.1 довгого (q) плеча. При такій мікрodelеції наявний ризик появи фізичних, психологічних та розумових відхилень. У деяких людей симптоми на пряму майже не проявляються, виникаючи лише під впливом факторів навколишнього середовища та генетичних чинників [9].

Синдром delеції 2q37 видаляє з кінця довгого плеча хромосоми 2 фрагмент q37. Видалений фрагмент є важливим для організму людини, тому його відсутність викликає тяжкі захворювання. Внаслідок втрати з хромосоми 2 ген HDAC4, у людини виникає розумова відсталість та затримка у розвитку рухливості тіла, а інколи навіть і аутизм [11].

Синдром delеції 3p видаляє за хромосоми 3 невеликий кінцевий фрагмент з короткого (p) плеча. У більшості людей, теломерна ділянка хромосоми піддається delеції, і лише за деякими випадками вона уникає вирізання. Розмір делетованої ділянки варіює від того, як сильно уражений хворий. Така ділянка може містити в собі як невелику кількість генів, так і достатньо високу. Через це у кожного хворого індивідуально проявляється синдром. Існує припущення, що кінцеві фрагменти хромосоми 3 мають гени, які відповідають за розвиток нервової системи, але це дуже складно відслідкувати у хворого, так як вони не завжди захоплюються при delеції. Здебільшого втрата основних генів впливає на фізичний розвиток особи [12].

Синдром мікрodelеції 3q29 спостерігається в хромосомі 3 кожної клітини. З довгого плеча видаляється фрагмент q29, в якому локалізуються гени відповідальні за розвиток мозку. Хоч більшість і мають вади у розвитку, за деякими випадками втрата фрагменту ніяк не вплинула на здоров'я людини. Є припущення, що при наявності інших мутацій на додаток до мікрodelеції 3q29, вони сприяють блокуванню розвитку захворювань, які властиві синдрому мікрodelеції 3q29 [13].

Інверсія (скорочено inv) – це подвійний розрив ділянки хромосоми, який інвертується при репараційній похибці, тобто прокручується на 180°, залишаючись

на тому ж місці [2;21]. Така мутація може спостерігатися парацентрично або перицентрично. Парацентрична інверсія розриває фрагмент в області одного плеча, а перицентрична інверсія має дві точки розриву розташованих в обох плечах, таким чином захоплюючи центромеру. Змінюється центромерний індекс лише при перицентричній інверсії [2;7]. Під час інверсії дуже рідко коли генетичний матеріал губиться, лише у випадку невдалого розриву фрагменту в функціонально важливій частині [2]. У людей з проблемами в репродуктивній функції, часто спостерігається інверсія 9 та Y хромосомам. Досить рідко, але трапляється перицентрична інверсія в хромосомі 1 [2]. Найчастіше, інверсія виявляється в хромосомі 2 [18].

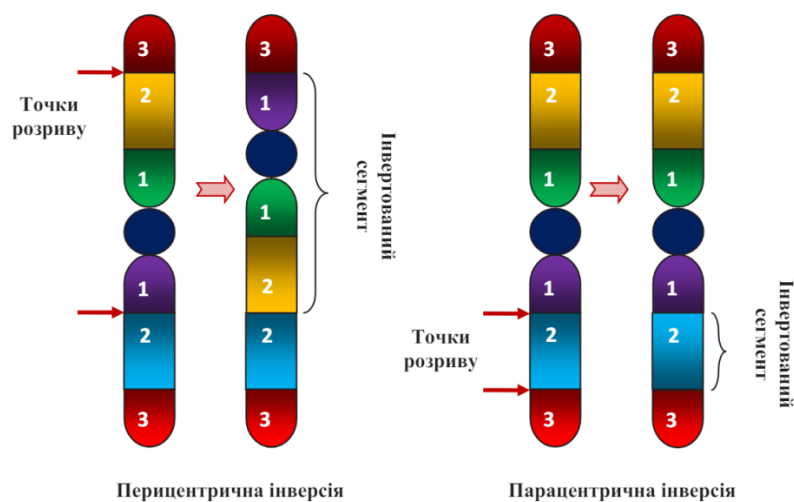


Рис. 1.6. Перицентрична та парацентрична інверсії [7]

Дуплікація (скорочено *dup*) – це незбалансована мутація, протилежна делеції, яка призводить до появи додаткового генетичного матеріалу під час подвоєння певної ділянки хромосоми. Дуплікація та мікродуплікація виникають через нерівний кросинговер в гомологічних хромосомах. При дуплікації, аномальний розвиток в організмі людини зустрічається вкрай рідко, на відміну від делеції [2]. До найбільш досліджуваних дуплікацій відносяться синдроми часткових трисомій по 4, 7, 9, 12 і 14 хромосомам, та спадкова хвороба Шарко-Марі-Тута типу ІА, яка дублює ділянку хромосоми 17 [2;7]. Більш рідкісними є мікродуплікація 1q21.1 та синдром мікродуплікації 3q29 [10;14].

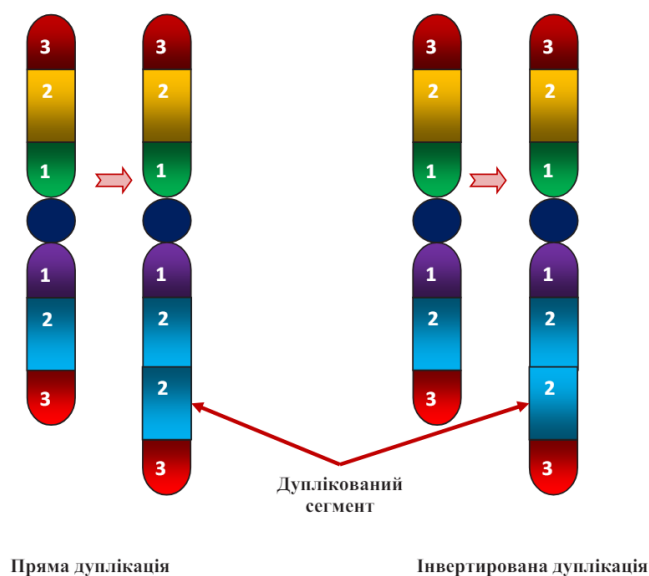


Рис. 1.7. Пряма та інвертована дуплікації [7]

Мікродуплікація 1q21.1 подвоює невеликий фрагмент q21.1 довгого плеча хромосоми 1 у кожній клітині організму. Люди з такою мутацією практично не мають якихось ознак або симптомів. Інколи, у людини спостерігають затримку у розвитку та розумову відсталість, що призводить до аутизму. Сила впливу захворювання залежить від розміру копіюючого фрагмента [10].

Синдром мікродуплікації 3q29 в кожній клітині подвоює ділянку q29 довгого плеча хромосоми 3. Сегмент який дублюється має у своєму складі гени, функція яких полягає у розвитку мозку та очей. Більшість людей які мають цей синдром не скаржаться на проблемі зі здоров'ям. Скоріш за все, при наявності інших мутацій на додаток до мікродуплікації 3q29, ними блокується розвиток захворювань, які властиві синдрому мікрodelеції 3q29 [14].

Ізохромосома (скорочено і) – це мутація, яка виникає в наслідок поділу хромосоми через центромеру не по довжині, а поперек, при цьому одне з плеч втрачається, а інше – дублюється [2]. Утворюється ізохромосома здебільшого під час мейозу [7]. Каріотип людини з ізохромосомою складається з двох однакових половинок довгих або коротких плечей статевої Х-хромосоми. Таким чином,

ізохромосома може брати участь у формуванні мозаїчної форми синдрому Шерешевського-Тернера [2].

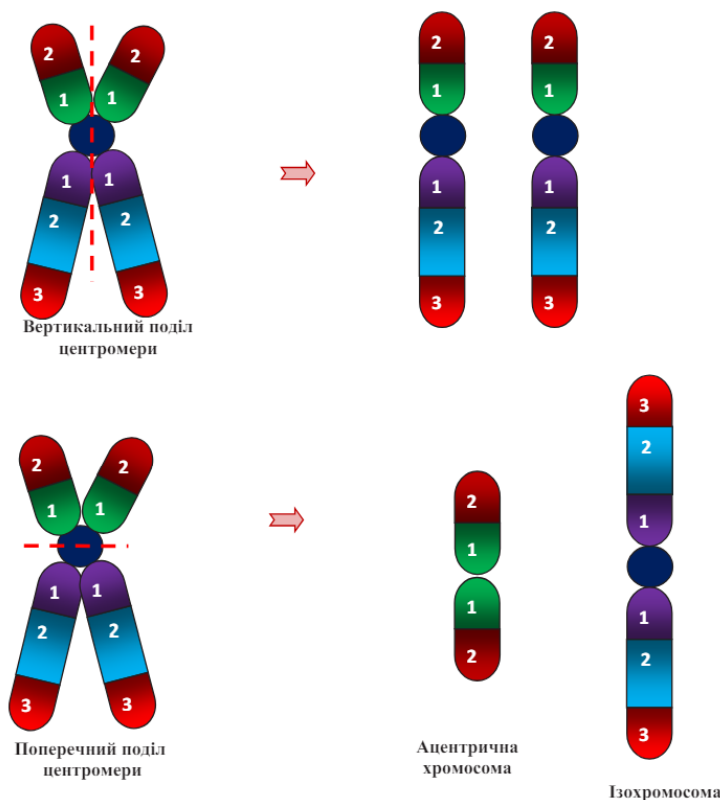


Рис. 1.8. Ізохромосома [7]

Транслокація (скорочено t) – це тип структурної мутації, під час якої обидві хромосоми обмінюються ділянками між собою. Існує два типи транслокацій: реципрокна та робертсонівська [2].

При реципрокній транслокації негомологічні хромосоми обмінюються однаковими сегментами. Кількість хромосом в каріотипі не змінюється, залишаючись у нормі (46), а це значить що виявити таку транслокацію складніше, і можливо лише при проведенні детального аналізу метафазних пластинок із застосуванням диференційного забарвлення. Здебільшого в обміні приймають участь довгі плечі 11 та 22 хромосом, або 17 та 22 хромосом [2;7].

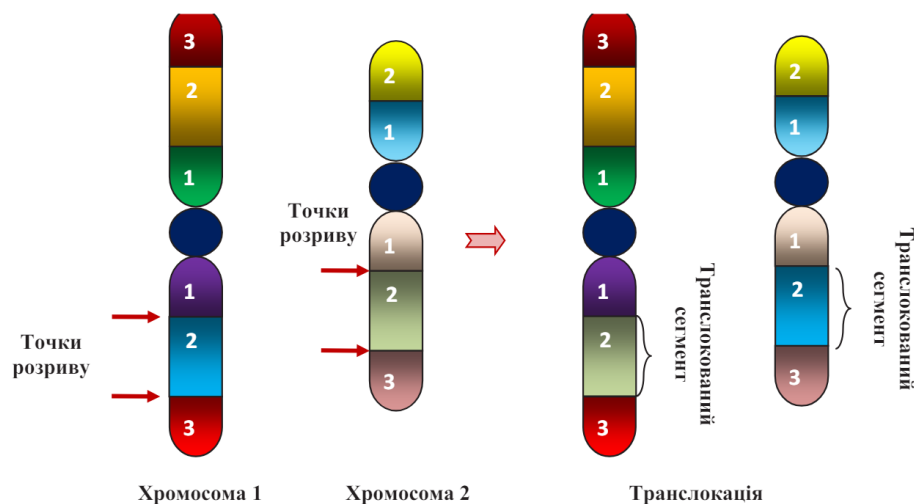


Рис. 1.9. Реципрокна транслокація [7]

При робертсонівській транслокації може відбуватися обмін як між гомологічними, так і не гомологічними акроцентричними хромосомами, об'єднуючи два довгих плеча, при цьому втрачаючи короткі плечі під час клітинного поділу. В каріотипі зменшується кількість хромосом з 46 на 45. Найчастіше, обмін ділянками здійснюється між 13 та 14 хромосомами, або 14 та 21 хромосомами [2;7].

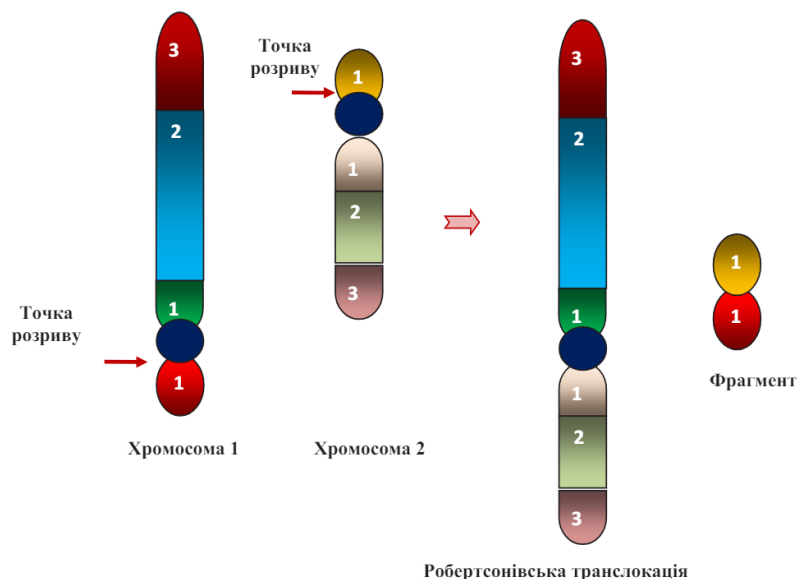


Рис. 1.10. Робертсонівська транслокація [7]

Інсерція (скорочено ins) – це хромосомна аберація, при якій відбуватися потрійний розрив, один фрагмент з яких переноситься і вставляється в розірвану

частину іншої хромосоми, з'єднуючи всі розірвані ділянки в одній хромосомі. Така перебудова вважається збалансованою. Носії інсерції, мають наполовину незбалансовані гамети, так як хромосома утворюється або з делецією, або з інсерцією, таким чином зиготи містить в собі часткову трисомію або моносомію [2]. Зазвичай, інсерції спостерігаються на довгих плечах 2, 5, 7 та 13 хромосом [7].

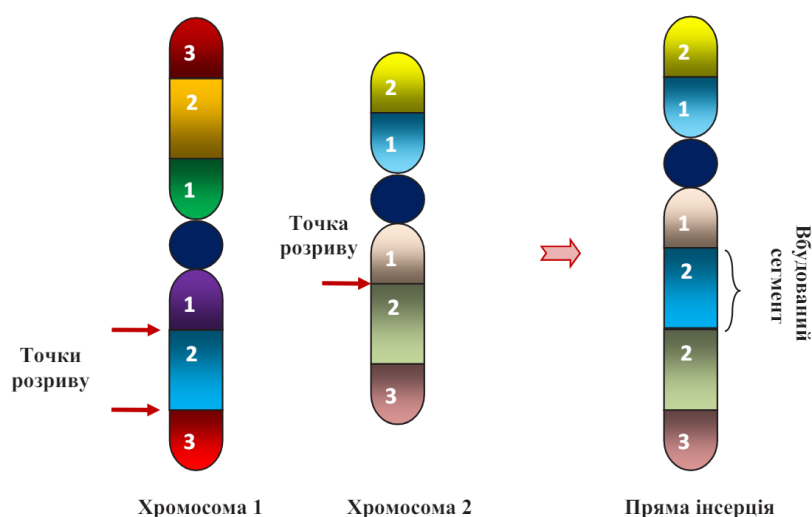


Рис. 1.11. Інсерція [7]

Кільцева хромосома (скорочено r) – виникає, коли відбуваються розриви в прителомерних районах кожного плеча хромосоми, при цьому ацентричні фрагменти втрачаються, а центральна частина хромосоми з'єднується, утворюючи кільце [2]. В утворенні кільцевих хромосом, здебільшого, приймають участь 13 та 18 хромосоми [7]. За деякими випадками, 1, 2 та 3 хромосоми також можуть утворювати кільця. Через те, що хромосома приймає форму кільця, реплікація не відбувається, тому імовірно виникають аномалії в організмі людини [19].

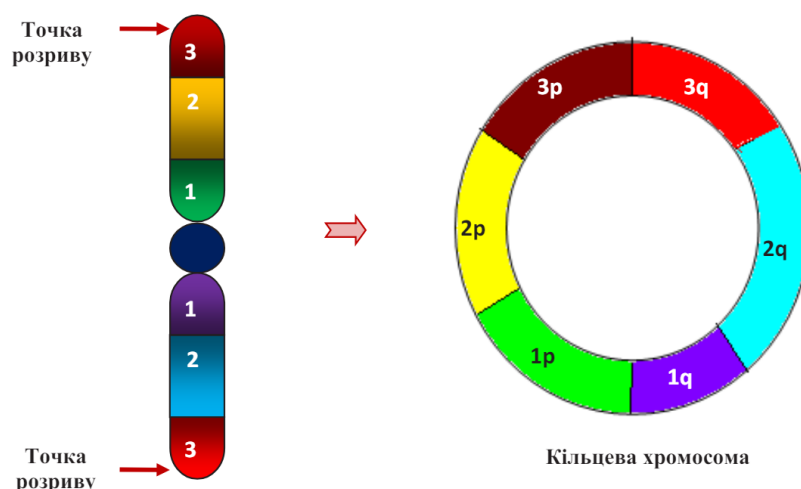


Рис. 1.12. Кільцева хромосома [7]

1.3.3. Чисельні хромосомні мутації

Окрім структурних порушень хромосом, існують численні, які змінюють кількість хромосом у клітині. Вони можуть як збільшувати, так і зменшувати чисельність хромосом. Зміна числа хромосом, що не впливає на гаплоїдний набір, називається анеуплоїдією [7]. При такій аномалії, зменшення кількості хромосом життєздатне лише для синдрому Шерешевського-Тернера (45,X), а збільшення можливе для деяких, як статевих, так і для аутосомних хромосом [2]. Зміни, які впливають на гаплоїдний набір хромосом, тим самим збільшуючи його, називається поліплоїдією [7]. Таке явище не є життєздатним для людини, за виключенням рідкісних мозаїчних форм [6].

Найчастіше, чисельні мутації формуються під час мейозу, при неправильній розбіжності хромосом, або на ранньому розвитку після утворення зиготи [7].

На сьогоднішній день відомо, що при поліплоїдії може утворитися один з двох типів наборів хромосом: триплоїдія (69,XXY; 69,XXX) або тетраплоїдія (92,XXYY; 92,XXXX) [7;6].

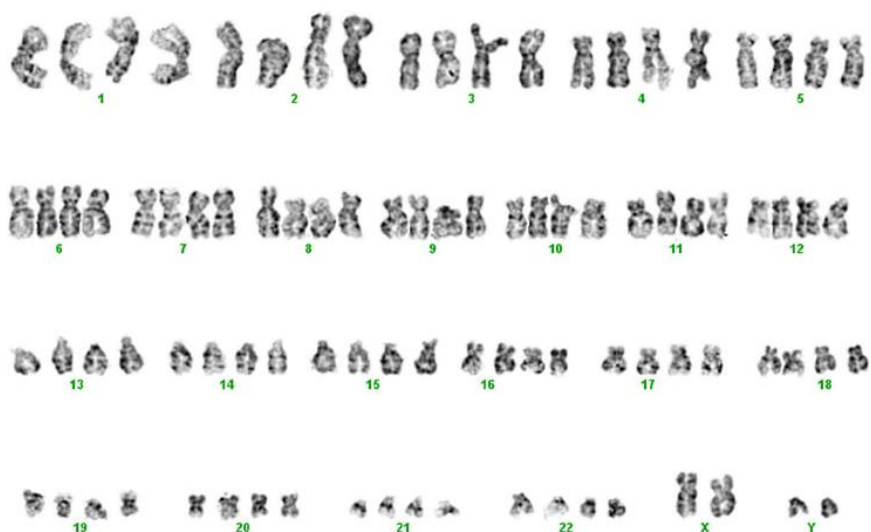


Рис. 1.13. Каріограма хлопчика з тетраплоїдією – 92,XXYY [43]

Діти, що народжуються з такою кількістю хромосом, довго не живуть. Найчастіше вони зазнають внутрішньоутробної загибелі. Існує два прецеденти, під час яких новонароджені (хлопчик та дівчинка) із істинною тетраплоїдією, прожили понад 1,5 роки [6]. Також, було зафіксовано кілька випадків, при яких діти, що народилися з мозаїчною формою тетраплоїдії, прожили не один рік. Один із таких прикладів є хлопчик 11 років, у якого тетраплоїдно-диплоїдний мозаїцизм. Каріотип хлопчика становить 92,XXYY/46,XY [42].

Мутації за анеуплоїдією також поділяються на два типи: полісомія – яка в свою чергу розподіляється на трисомію, тетрасомію і пентасомію, а також моносомія [7].

У разі полісомії кількість хромосом збільшується, формуючи кілька копій конкретної хромосоми. За аутосомним типом, існує лише три варіанти трисомії: синдром Дауна (трисомія 21 хромосоми), синдром Едвардса (трисомія 18 хромосоми) та синдром Патау (трисомія 13 хромосоми). Інші аутосомні трисомії є летальними на ранніх термінах вагітності. З роками у жінок підвищується ризик народження дитини з аутосомною трисомією, що пов'язано, здебільшого, зі зменшенням кількості яйцеклітин в організмі [2;7].

Полісомія за статевими хромосомами утворює численні варіанти каріотипів, у межі від 47 до 49 хромосом в наборі. Серед них, виділяють ряд мутацій: синдром Клайнфельтера (найвідоміший – 47, XXY, рідкісні – 48, XXXY, 49, XXXXY), полісомія X (найвідоміший – 47, XXX, рідкісні – 48, XXXX, 49, XXXXX), а також полісомія Y (найвідоміший – 47, XYY, інші – рідкісні) [2;7]. Кожне аномальне збільшення кількості X хромосоми, може призвести до підвищення відсотка ймовірності розумової відсталості та інших ознак погіршення розвитку [6].

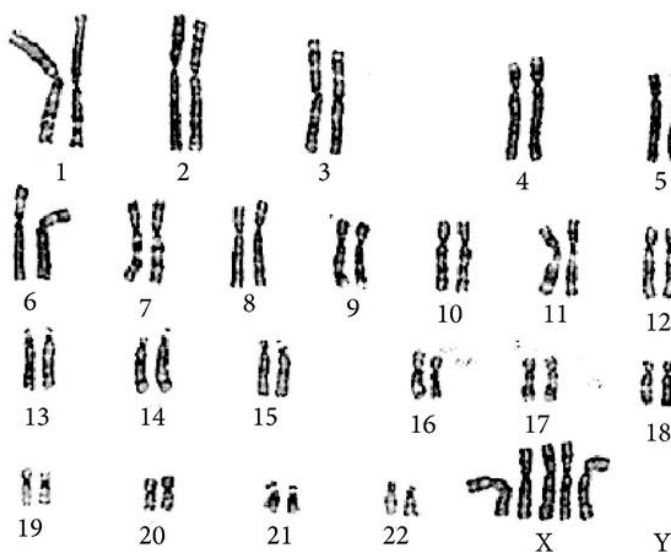


Рис. 1.14. Каріограма дівчинки з пентасомією – 49, XXXXX [23]

Єдиною життєздатною моносомією є синдром Шерешевського-Тернера, каріотип якого дорівнює 45,X. При повному прояві мутації відсутня одна X хромосома, найчастіше внаслідок порушень у процесі мейозу у батька [2]. З цієї причини, X хромосома може не сформуватися, або зазнати будь-яких структурних змін. Це може бути як делеція одного з плечей, утворення кільцевих хромосом, різні транслокації, а також формування з коротких або довгих плечей ізохромосоми [6]. Також, існує частковий прояв синдрому, у вигляді мозаїцизму. Він протікає симптоматично легше, ніж повний синдром Шерешевського-Тернера [30].

1.3.4. Мозаїцизм

Мозаїцизм – це порушення, при якому з однієї зиготи утворюється два або більше типи клітин з різним генетичним складом [2]. Це відбувається під час мітозу, найчастіше призводячи до не розбіжності або анафазної затримки сестринських хроматид. У разі не розбіжності, обидві сестринські хроматиди переходять до одного полюсу, формуючи каріотип з трисомним та моносомним наборами клітин. Якщо ж в анафазі деяких клітин відбувається затримка X хромосоми, це в подальшому може призвести до її втрати й утворенню каріотипа з частково нормальними та аномальними клітинами, тим самим утворюючи мозаїчну форму синдрому Шерешевського-Тернера (45,X/46,XX). Відображається мозаїцизм із таким каріотипом приблизно у 15-25% пацієнток із синдромом Шерешевського-Тернера [7]. Інші форми проявляються рідше, особливо з потрійним каріотипом, у складі якого міститься ізохромосома Xq (до 10%) [44].

Зустрічається мозаїцизм на різних етапах розвитку: ранній (стосується всіх клітин організму) і пізній (відображається тільки в конкретних тканинах або органах) [2;7]. Повертаючись до вище згаданого хлопчика з тетраплоїдно-диплоїдним мозаїцизмом, нормальний хромосомний набір (46, XY) у нього виявили в крові, а тетраплоїдний (92, XXYY) – у фібробластах [42]. Під час проведення аналізу слід враховувати, що при пізньому прояві мозаїцизму результат може виявитися хибним. З цієї причини потрібно проводити ретельне обстеження і в разі необхідності виконати повторний аналіз для підтвердження або спростування діагнозу.

1.3.5. Синдром Шерешевського-Тернера

Синдром Шерешевського-Тернера (або синдром Тернера) – це хромосомна аномалія, при якій відсутня повністю або частково одна статевая X хромосома [44]. Офіційно захворювання було описано та названо на честь двох вчених: М. А. Шерешевським у 1925 р., а через 13 років, Х. Х. Тернер визначив основні 3 симптоматичні прояви синдрому, описавши сім хворих 15-23 років: широка

крилоподібна шия, затримка росту та статевого розвитку [2;46]. Були й інші вчені, які також зробили не менший внесок: Д. Б. Морганьї (1768 р.), О. Ульріх (1938 р.) – описавши восьмирічну дівчинку хвору на синдром, а також Ч. Форд (1959 р.) – який встановив цю хворобу, як моносомію за Х-хромосомою [20;44].

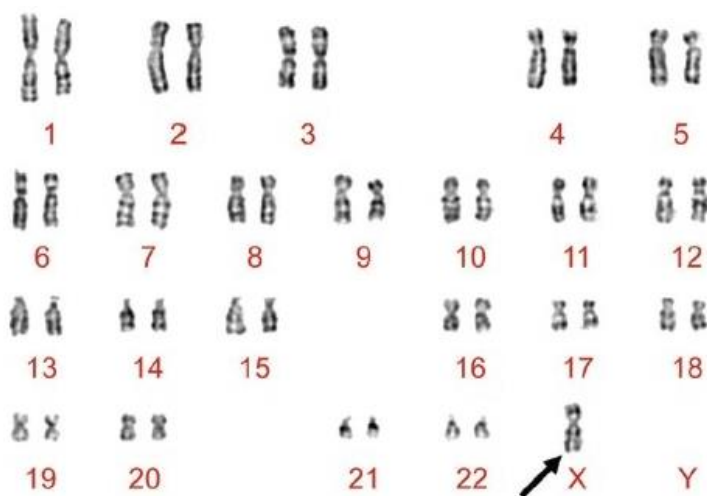


Рис. 1.15. Каріограма жінки з синдромом Шерешевського-Тернера [32]

За останніми даними відомо, що лише ген SHOX відповідає за деякі фенотипові прояви синдрому Шерешевського-Тернера. На жаль, зараз більшість ознак синдрому достовірно не вивчені. Вчені працюють над цим, спростовуючи ранню думку про генетичну простоту синдрому Шерешевського-Тернера [44].

Проявляється синдром з частотою 1 на 2500-3000 новонароджених [3;20]. Повна моносомія Х найчастіше є летальним на ранніх етапах розвитку, тоді як хворі на мозаїчну форму синдрому Шерешевського-Тернера переносять захворювання по-різному. При легкій формі, мозаїцизм можуть не діагностувати через відсутність типових проявів синдрому. Існують випадки, при яких мозаїцизм фенотипово стає помітним, впливаючи на метаболізм, серцево-судинну систему, нирки, а також репродуктивну функцію. У середньому синдром діагностують у хворих віком 15 років. У 20% випадків захворювання залишається не діагностованим. Це може призвести до погіршення самопочуття, що можна було б уникнути при наявності ранньої діагностики [44]. Найпоширенішим каріотипом серед всіх мозаїчних форм синдрому Шерешевського-Тернера є 45,X/46,XX [4].

Однією з структурних мутацій, властивою синдрому Шерешевського-Тернера, є ізохромосома X [7]. Вона може виявлятися не лише як єдиний варіант каріотипу, але й при мозаїчній формі синдрому, вважаючись рідкісним явищем [44]. Ізохромосома X, характерна для синдрому Шерешевського-Тернера, формується з подвоєних довгих плечей статевої X-хромосоми [7]. Активація роботи ізохромосоми та поява додаткового генетичного матеріалу в ній відбувається за відсутності гена XIST, що призводить до більш важкого перебігу синдрому, ніж за його наявності [28].

Наявність X хромосоми в мозаїчному каріотипі або каріотипі з ізохромосомою може бути представлена в рівній ймовірності як батьківської, так і материнської статевої хромосоми, на відміну від повного прояву синдрому Шерешевського-Тернера, де X-хромосома переважно успадковується від матері [44].

При обстеженні на підозру синдрому Шерешевського-Тернера, перше на що звертають увагу, це на наявність низького росту, короткої та широкої крилоподібної шиї, широку грудну клітку, низьке розташування лінії волосся на потилиці, особливий вигляд очей (антимонголоїдний розріз, епікантна складка, опущені верхні повіки (птоз)), широкий лоб, маленьке підборіддя, високе (готичне) піднебіння, деформовані та низько посаджені вуха, а також порушення опорно-рухової системи [3].

Серед клінічних проявів, головну роль відіграє статевий розвиток. За наявності синдрому, зазвичай спостерігається первинна аменорея (96%), агенезія гонад, дисгенезія яєчників (90%), що часто призводить до безпліддя. Крім того, люди із захворюванням можуть страждати на цукровий діабет 2-го типу, гіпертонію, порушення слуху (53%), нирок (40%), а також серцево-судинної системи. Рідко спостерігається порушення інтелекту. Існує підвищений ризик імунних захворювань [2;4;44].

Виявляється синдром вже при народженні. За деякими даними, дитина народжується дуже маленьким зростом (від 42 до 48 см) та вагою (від 2500 до 2800 г). Інші ознаки, насамперед, відповідають тріаді Х. Х. Тернера. До поведінки, що властиве дітям із захворюванням, належать: труднощі зі смоктанням, тривожність, інтенсивне блювання [2].

Існує невеликий відсоток встановлення наявності сколіозу (10%) під час обстеження підлітків [3]. Одним із показників так само є зменшення овоłosіння на лобку та під пахвами [4]. Середній ріст відрізняється залежно від форми захворювання. Статистика показує, що особи з мозаїчним каріотипом 45,X/46,XX мають вищий ріст, ніж із повною формою – 45,X [27].

У 99% плодів, втрачених під час вагітності спостерігалися вади серця. У постнатальний період, у хворих на синдром Шерешевського-Тернера, частою причиною смерті є порушення серцево-судинної системи (понад 40%) [4;44]. Найбільш чутливими до цього порушення є люди, у яких в каріотипі є ізохромосома Xq [44].

На даний момент, вилікувати генетичне захворювання неможливо, але можна поліпшити якість життя хворого [28]. Починаючи з раннього віку, дуже важливо здійснювати медичне обстеження, аби виявити основні клінічні прояви синдрому. Таким чином, формується комплексне лікування для уражених систем та органів. Особливо це стосується порушень репродуктивної функції. У дорослому віці, призначене гормональне лікування може проходити значно складніше, ніж розпочати його на ранньому етапі життя [44]. Те саме стосується і операцій при порушеннях серцево-судинної системи [4].

У деяких випадках рекомендується видалення гонад, оскільки існує підвищений ризик онкології [3].

Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У цій роботі проводилися вимірювання центромерного індексу хромосом 1, 2, 3 та X у жінок з нормальним каріотипом і при мозаїцизмі 45,X/46,XX. Для дослідження відібрали 10 дівчат, яких розділили на дві групи в кожній з яких по 5 осіб: контрольна група та група з мозаїчним каріотипом при синдромі Шерешевського-Тернера. В кожній з дівчат відібрали по 10 метафазних пластинок забарвлених гомогенним способом. Контрольна група мала всі метафази з хромосомним набором 46,XX, у той час як група з мозаїцизмом переважно мали по 5 метафаз 46,XX, і 5 – 45,X. У процесі роботи було виявлено у двох дівчат потрійний каріотип – 45,X/46,X,i(Xq)/46,XX. Оскільки спочатку нашою роботою було проаналізувати мозаїчні каріотиби 45,X/46,XX, повноцінного відбору ізохромосомних метафаз не було. Всього у роботі представлено 3 ізохромосомні метафази, 2 з яких належать одній особі.

Спершу провели первинну візуальну ідентифікацію кожної пари 1, 2, 3 та X хромосом. Щоб детальніше вивчити кожну хромосому та підтвердити або спростувати їх первинну ідентифікацію, метафазні пластинки фотографували і для вимірювань використовували програму TourView.

Проаналізувавши наукову літературу ми дізналися, що центромерний індекс встановлює величину хромосоми у співвідношенні довжини короткого плеча до довжини всієї хромосоми, беручи її за 100%. При вимірюванні кожної хромосоми, отримуються два значення – довжина короткого плеча та довжина всієї хромосоми. Застосована програма TourView дозволяє отримати виміри за цифровими фото в пікселях без необхідності попередньої калібровки та прив'язки до масштабу та збільшення фото. Центромерний індекс є співвідношенням довжин, що також дозволяє не брати до уваги відмінності фото за масштабом та збільшенням.

Через правила конфіденційності, зазначати повні імена та прізвища є порушенням норми моралі і права, тому у кожній групі учасницю було прийнято закодувати: контрольна група – Я. К., Л. Д., Ш. К., В. Н., Ч. Д.; група з мозаїчним каріотипом

при синдромі Шерешевського-Тернера – Ш. Н., З. К., Р. А., С. Є., П. Є.. Приклади фото метафазних пластинок з позначеними хромосомами (одне або декілька фото на кожну людину, в залежності від каріотипу), наведені нижче.

Контрольна група



Фото 1. Метафазна пластинка Я. К.

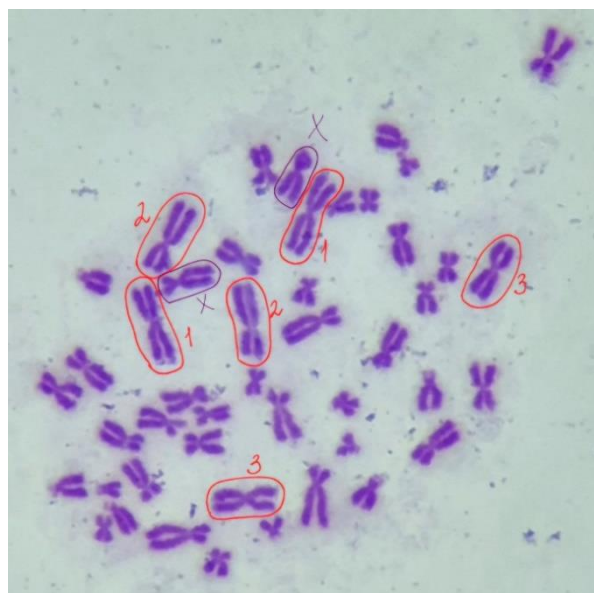


Фото 2. Метафазна пластинка Л. Д.

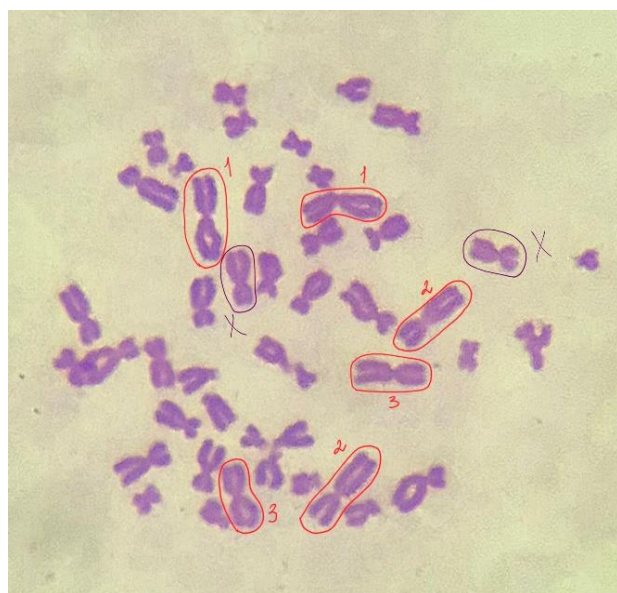


Фото 3. Метафазна пластинка Ш. К.

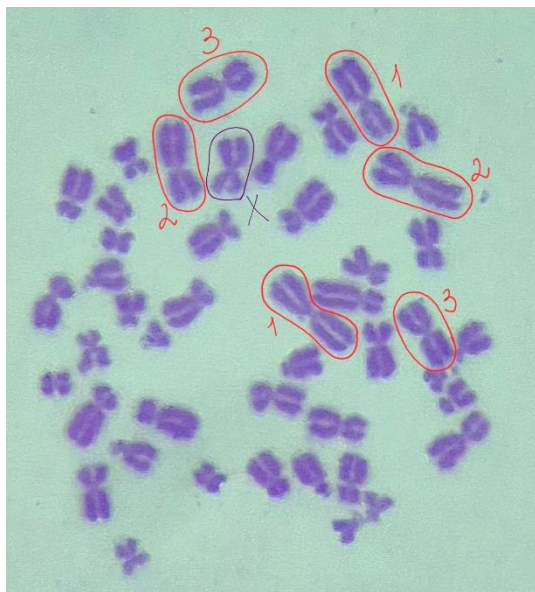


Фото 4. Метафазна пластинка В. Н.

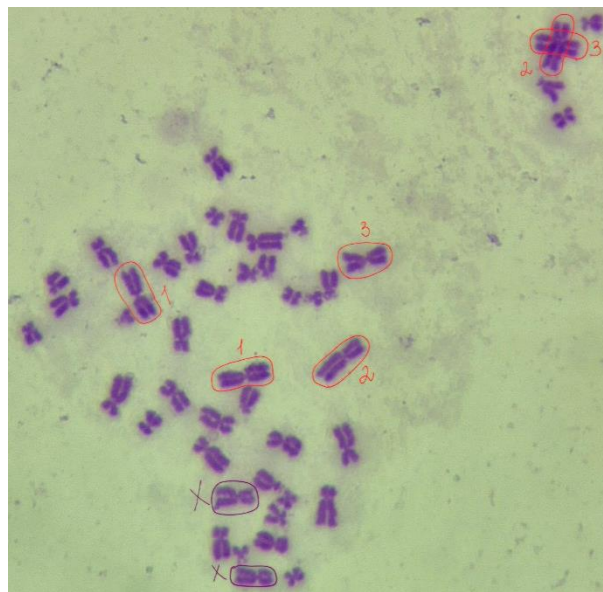


Фото 5. Метафазна пластинка Ч. Д.

Група з мозаїчним каріотипом при синдромі Шерешевського-Тернера

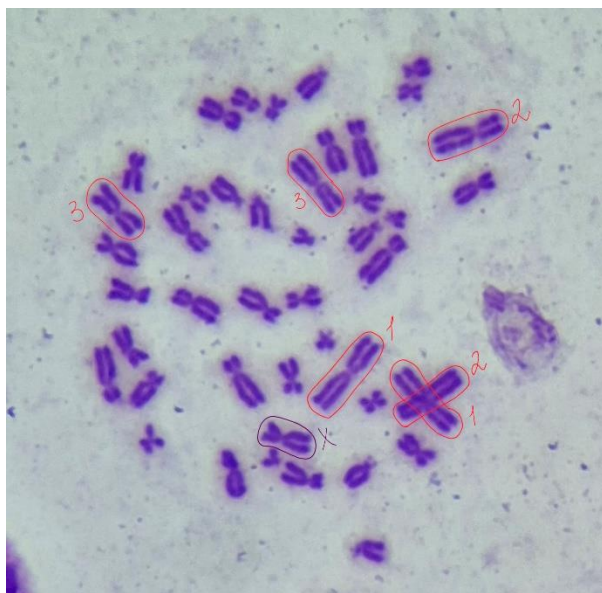


а)

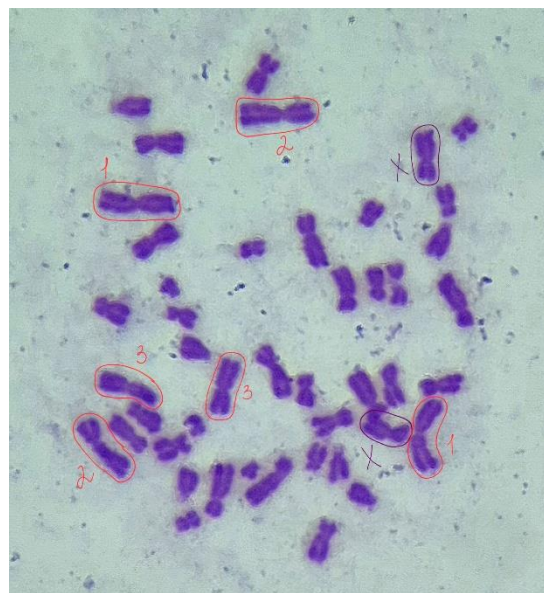


б)

Фото 6. Метафазні пластинки Ш. Н.: а) 45,X; б) 46,XX



а)

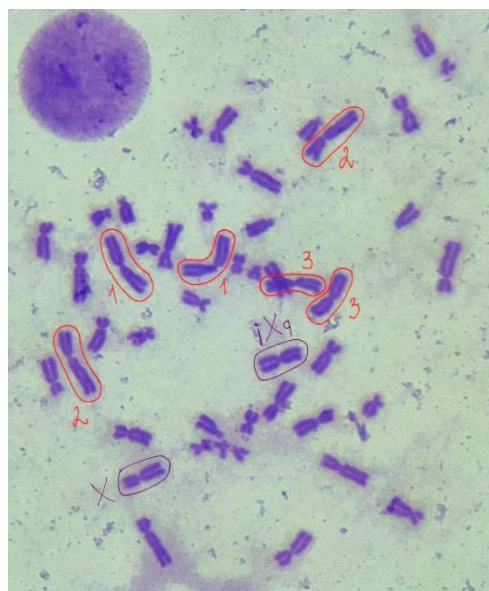


б)

Фото 7. Метафазні пластинки З. К.: а) 45,X; б) 46,XX



а)



б)



в)

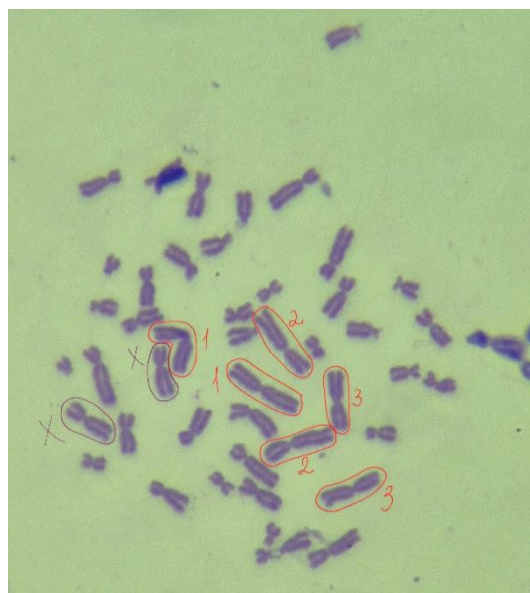
Фото 8. Метафазні пластинки Р. А.: а) 45,X; б) 46,X,i(Xq); в) 46,XX



a)

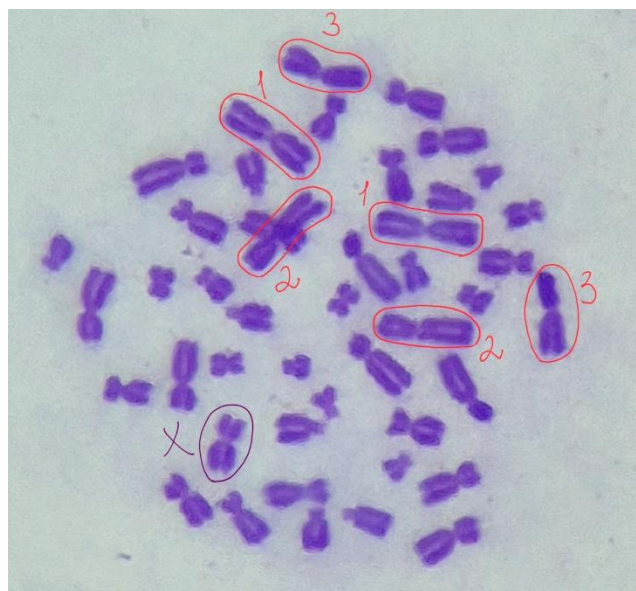


б)



в)

Фото 9. Метафазні пластинки С. Є.: а) 45,X; б) 46,X,i(Xq); в) 46,XX



а)



б)

Фото 10. Метафазні пластинки П. Є.: а) 45,X; б) 46,XX

Методи статистичного аналізу даних: для кожної особи розраховували середню арифметичну показника «центромерний індекс» кожної досліджуваної хромосоми та стандартну похибку середньої арифметичної. Ці дані використовували для візуалізації. Дівчатам індивідуально вимірювали значення центромерного індекса хромосом, використовуючи критерій Краскела – Уолліса (H), та порівнювали дані груп зі нормальним та мозаїчним каріотипом t-критерієм Стьюдента.

Розділ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Після візуальної ідентифікації хромосом, щоб підтвердити або спростувати було проведене вимірювання центромерного індексу для остаточного результату. У підсумку, вдалося підтвердити належність хромосом 1, 2, 3 та X, до тих же номерів і гомологів, яких було від самого початку ідентифіковано візуально.

За результатами вимірювань та аналізу встановлено, що досліджувані хромосоми характеризуються невеликою варіабельністю центромерного індекса. Це спостерігається через індивідуальну конденсацію хромосом в метафазних пластинках, що є нормою, не належачи до аберації.

Значення центромерного індекса хромосом окремих пацієнтів не відрізняються (оцінювали за допомогою критерія Краскела-Уолліса (H)), що дозволило об'єднати дані по різних пацієнтках і порівняти групи зі нормальним та мозаїчним каріотипом (t-критерієм Стюдента). Відмінностей за даним показником між пацієнтами з нормальним та мозаїчним каріотипом також виявлено не було. Наші дані р значимого виявилися вищими, ніж стандартне 0,05.

Для всіх хромосом було підтверджено приналежність до певного відповідного стандартного типу (1 та 3 – метацентричні; 2 та X – субметацентричні) за умови застосування використаного в роботі підходу та засобів.

Нижче представлені графіки які відповідають окремо за кожну досліджувану хромосому. Перші 3 надають характеристику хромосом 1, 2, та 3. Незначний рівень як індивідуальної так і групової мінливості аутосом, на наш погляд, свідчить про структурну стабільність досліджених хромосом. Про відсутність в них великих, або значної кількості делецій, інсерцій, транслокацій, дуплікацій.

На рис. 3.4. наявні результати аналізу даних по хромосомі X. І хоча візуально здається, що варіабельність X-хромосом за центромерним індексом в мозаїчних каріотипах більша (останні дві пацієнтки), статистичний аналіз не підтвердив наявності відмінностей між групами.

В табл. 1 окремо були виділені результати обрахунку центромерного індекса для кількох виявлених ізохромосом X. У даному випадку, генетичний матеріал представлений тільки матеріалом довгого плеча. І центромерний індекс чітко відображає, що представлені X хромосоми не субметацентричні, як мають бути, а фактично метацентричні, особливо ті, що виявлені на фото 3 та 4.



Рис. 3.1. Характеристика індивідуальної мінливості центромерного індексу хромосоми 1 у генетично здорових жінок та з мозаїчним синдромом Шерешевського-Тернера

($H(\text{норма})=0,59$ (4, $N = 200$), $p=0,96$; $H(\text{мозаїцизм})=0,66$ (4, $N = 200$), $p=0,96$;

$t(\text{норма} - \text{мозаїцизм}) = 0,22$, $p=0,41$)

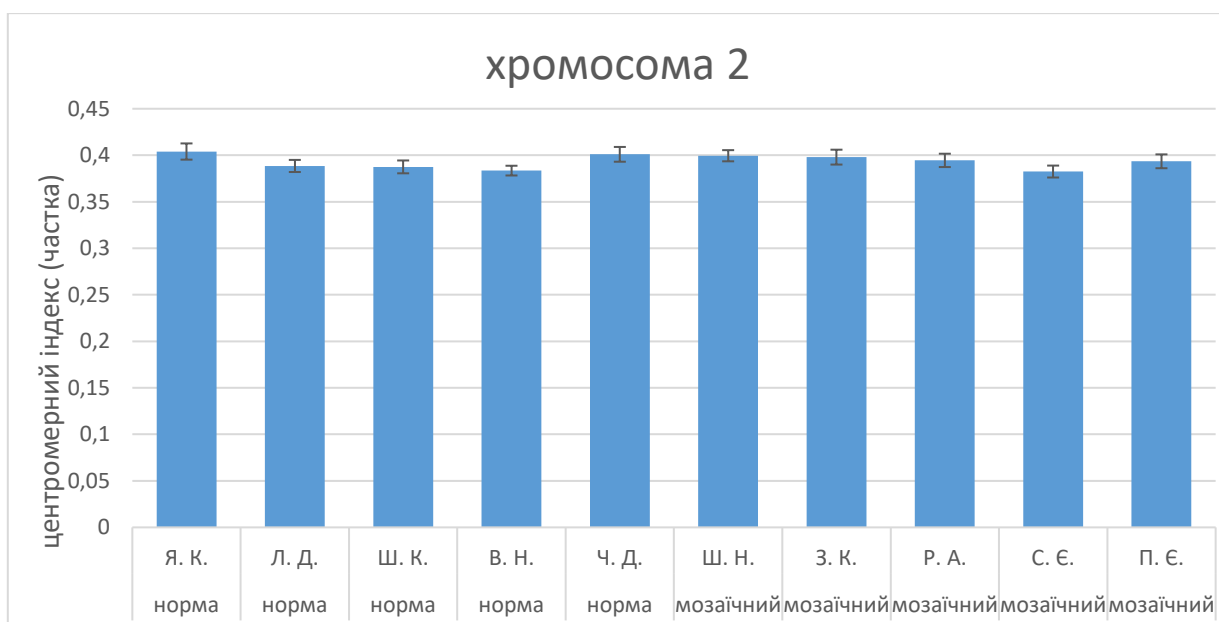


Рис. 3.2. Характеристика індивідуальної мінливості центромерного індексу хромосоми 2 у генетично здорових жінок та з мозаїчним синдромом Шерешевського-Тернера
 $(H(\text{норма})=0,29 \text{ (4, N = 200)}, p=0,99; H(\text{мозаїцизм})=0,36 \text{ (4, N = 200)}, p=0,99;$
 $t(\text{норма} - \text{мозаїцизм}) = 0,54, p=0,29)$

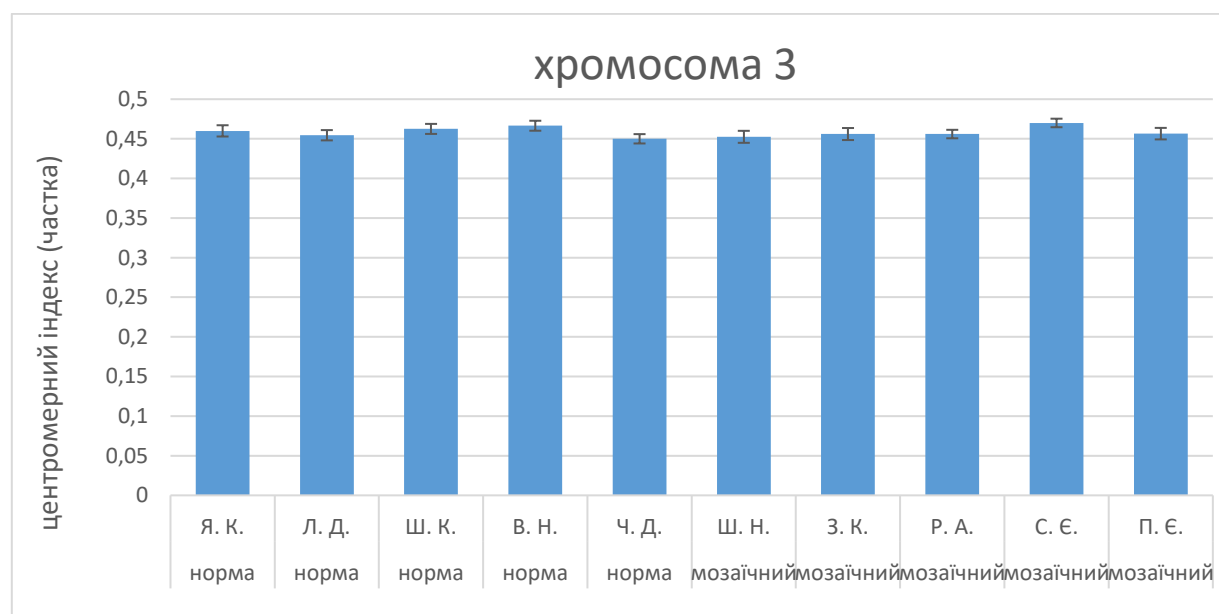


Рис. 3.3. Характеристика індивідуальної мінливості центромерного індексу хромосоми 3 у генетично здорових жінок та з мозаїчним синдромом Шерешевського-Тернера
 $(H(\text{норма})=0,56 \text{ (4, N = 200)}, p=0,97; H(\text{мозаїцизм})=0,88 \text{ (4, N = 200)}, p=0,93;$
 $t(\text{норма} - \text{мозаїцизм}) = 0,61, p=0,27)$

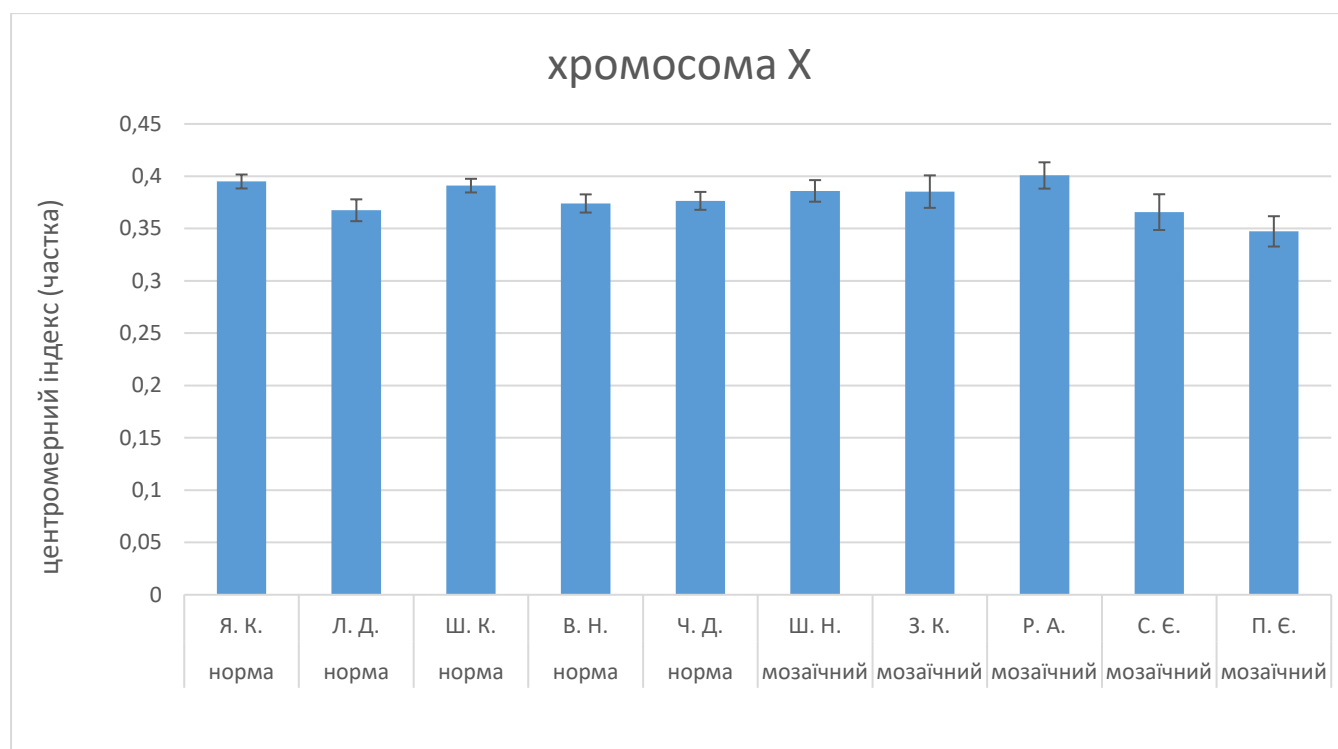


Рис. 3.4. Характеристика індивідуальної мінливості центромерного індексу хромосоми X у генетично здорових жінок та з мозаїчним синдромом Шерешевського-Тернера
 $(H(\text{норма})=1,05 (4, N = 199), p=0,90; H(\text{мозаїцизм})=0.87 (4, N = 144), p=0,93;$
 $t(\text{норма} - \text{мозаїцизм}) = 0,03, p=0,49)$

Таблиця 1.

Характеристика індивідуальної мінливості центромерного індексу ізохромосоми X у жінок з мозаїчним синдромом Шерешевського-Тернера

Номер фото	Особа (код)	Номер хромосоми	Довжина короткого плеча	Довжина всієї хромосоми	Центромерний індекс
3	Р. А.	Xiq	133,77	267,61	0,50
5	Р. А.	Xiq	29,05	66,01	0,44
4	С. Є.	Xiq	34,65	70,41	0,49

ВИСНОВКИ

1. Опановано техніку виготовлення препаратів метафазних хромосом людини та їх фотографування.
2. Зібрано вибірку фотографій метафазних хромосом п'яťох генетично здорових жінок і п'яťох з мозаїчним синдромом Шерешевського-Тернера. Для кожної особи проаналізовано по 10 метафазних пластинок та візуально на кожній встановлено хромосоми 1, 2, 3 та X.
3. Здійснено виміри довжин хромосом 1, 2, 3 та X та їх плечей на фото метафазних пластинок за допомогою програмного забезпечення TourView та за результатами вимірів розраховано центромерний індекс для кожної хромосоми.
4. Розрахований в обраний спосіб центромерний індекс дозволив кваліфікувати хромосому 1 та 3 як метацентричні, а хромосоми 2 та X – як субметацентричні.
5. Статистично значущі відмінності за центромерним індексом хромосом 1, 2, 3 та X між пацієнтками з нормальним каріотипом та з мозаїчним відсутні.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аберації хромосом. ВУЕ. URL: https://vue.gov.ua/Аберації_хромосом
2. Багацька Н. В. Цитогенетика людини. – Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2014. – 164 с.
3. Бесєдіна А. А., Деменко М. М. Спадкові хвороби. SumDU Repository :: Home. URL: <https://essuir.sumdu.edu.ua/server/api/core/bitstreams/2650b5ed-bfce-4780-aa56-fb11f3cfa427/content>
4. Клініко-діагностичні особливості синдрому Тернера на сучасному етапі (огляд літератури). DSpace BSMU. URL: <https://dspace.bsmu.edu.ua/handle/123456789/26255>
5. МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДО ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНИХ РОБІТ З ОСНОВ ГЕНЕТИКИ. eUSPUIR. URL: https://dspace.udpu.edu.ua/bitstream/6789/2109/1/met_vkaz_vuk_pr_z_osn_gen.pdf
6. Січняк О. Л. Цитогенетична діагностика спадкової патології людини. URL: <https://dspace.onu.edu.ua/server/api/core/bitstreams/141ff942-0653-4c47-95a7-540af45a7ee0/content>
7. Хромосомні захворювання / за редакцією О. Є. Абатурова; Абатуров О. Є., Нікуліна А. О., Кривуша О. Л., Русакова О. О., Микитенко Д. О., Дитятковський В. О., Токарева Н. М. – Дніпро: ЛІРА, 2024. – 436 с.
8. 1p36 deletion syndrome: MedlinePlus Genetics. MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine. URL: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/1p36-deletion-syndrome/#inheritance>
9. 1q21.1 microdeletion: MedlinePlus Genetics. MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine. URL: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/1q211-microdeletion/#causes>
10. 1q21.1 microduplication: MedlinePlus Genetics. MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine. URL: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/1q211-microduplication/>

11.2q37 deletion syndrome: MedlinePlus Genetics. MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine. URL:

<https://medlineplus.gov/genetics/condition/2q37-deletion-syndrome/>

12.3p deletion syndrome: MedlinePlus Genetics. MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine. URL:

<https://medlineplus.gov/genetics/condition/3p-deletion-syndrome/>

13.3q29 microdeletion syndrome: MedlinePlus Genetics. MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine. URL:

<https://medlineplus.gov/genetics/condition/3q29-microdeletion-syndrome/>

14.3q29 microduplication syndrome: MedlinePlus Genetics. MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine. URL:

<https://medlineplus.gov/genetics/condition/3q29-microduplication-syndrome/>

15.A physical model for the condensation and decondensation of eukaryotic chromosomes / J. Mozziconacci et al. ScienceDirect. URL:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001457930501536X>

16.Annals of Clinical & Laboratory Science. URL:

<http://www.annclinlabsci.org/content/23/4/267.full.pdf>

17.[Box], Learn More (karyotype) - GeneReviews® - NCBI Bookshelf. National Center for Biotechnology Information. URL:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5191/box/further_illus-111/?report=objectonly#:~:text=A%20normal%20human%20karyotype%20consists,between%20each%20of%20the%20pairs

18.Chromosomal Aberrations. Osmosis. URL:

<https://www.osmosis.org/answers/chromosomal-aberrations>

19.Chromosome 3: MedlinePlus Genetics. MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine. URL:

<https://medlineplus.gov/genetics/chromosome/3/#conditions>

20. Contributors to Wikimedia projects. Centromere - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL:

https://en.wikipedia.org/wiki/Centromere#Centromere_types

21. Contributors to Wikimedia projects. Chromosomal inversion - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL:

https://en.wikipedia.org/wiki/Chromosomal_inversion

22. Contributors to Wikimedia projects. Chromosomal polymorphism - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL:

https://en.wikipedia.org/wiki/Chromosomal_polymorphism

23. Contributors to Wikimedia projects. Pentasomy X - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Pentasomy_X

24. Contributors to Wikimedia projects. Deletion (genetics) - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL:

[https://en.wikipedia.org/wiki/Deletion_\(genetics\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Deletion_(genetics))

25. Contributors to Wikimedia projects. Karyotype - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Karyotype>

26. Contributors to Wikimedia projects. Torbjörn Caspersson - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL:

https://en.wikipedia.org/wiki/Torbjörn_Caspersson

27. Contributors to Wikimedia projects. Turner syndrome - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL:

https://en.wikipedia.org/wiki/Turner_syndrome#Presentation

28. Contributors to Wikimedia projects. Turner syndrome - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL:

https://en.wikipedia.org/wiki/Turner_syndrome#Treatment

29. Cytogenetic Techniques in Diagnosing Genetic Disorders. ResearchGate. URL:

https://www.researchgate.net/publication/221920029_Cytogenetic_Techniques_in_Diagnosing_Genetic_Disorders/figures?lo=1

30. Daniel A., Milani Q., Chauhan P. R. Genetics, mosaicism. NCBI. URL:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559193/>

31. Dzhambazov B., Belkinova D., Mladenov R. Karyotypic analysis of two algae species *Scenedesmus incrassatulus* Bohl. and *Scenedesmus antennatus* Bréb. (Chlorophyta, Chlorococcales). Wiley Online Library. URL:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1601-5223.2003.01740.x#b18>

32. File:Karyotype of proband with Neurofibromatosis type 1, Tuberous Sclerosis complex and Turner Syndrome. The arrow indicates the presence of only one X chromosome in Karyotype.jpg - Wikimedia Commons. Wikimedia Commons. URL:
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Karyotype_of_proband_with_Neurofibromatosis_type_1,_Tuberous_Sclerosis_complex_and_Turner_Syndrome._The_arrow_indicates_the_presence_of_only_one_X_chromosome_in_Karyotype.jpg

33. Folic acid deficiency increases sensitivity to DNA damage by glucose and methylglyoxal / L. Donnellan et al. Oxford Academic. URL:
<https://academic.oup.com/mutage/article/37/1/24/6515367>

34. Fredga K. Chromosomal changes in vertebrate evolution. The Royal Society Publishing. URL:
<https://royalsocietypublishing.org/rspb/article/199/1136/377/32916/Chromosomal-changes-in-vertebrate-evolution>

35. Genetics, Chromosome Abnormalities - StatPearls - NCBI Bookshelf. National Center for Biotechnology Information. URL:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557691/#:~:text=A%20chromosomal%20abnormality,%20or%20chromosomal,%20sex%20chromosomes,%20or%20both>

36. Karyotype. Genome.gov. URL: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Karyotype#:~:text=The%20typical%20human%20karyotype%20contains,A%20malia%20Dutra,%20Ph>

37. Karyotyping: Current perspectives in diagnosis of chromosomal disorders. ResearchGate. URL: https://www.researchgate.net/publication/302893180_Karyotyping_Current_perspectives_in_diagnosis_of_chromosomal_disorders

38. Lawce H. The AGT Cytogenetics Laboratory Manual. Academia.edu - Find Research Papers, Topics, Researchers. URL: https://www.academia.edu/114432418/The_AGT_Cytogenetics_Laboratory_Manual

39. Paris Conference, 1971. Memorial University | Newfoundland and Labrador's University | Memorial University of Newfoundland. URL: https://www.mun.ca/biology/scarr/Paris_Conference_human_karyotype.html

40. Pattern of chromosomal aberrations persisting over 30 years in a Chernobyl Nuclear Power Plant accident survivor: study using mFISH - PMC. PMC Home. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8944318/>

41. Sex chromosomes & X-linked inheritance (article) | Khan Academy. Khan Academy. URL: <https://www.khanacademy.org/science/ap-biology/heredity/non-mendelian-genetics/a/sex-linkage-sex-determination-and-x-inactivation#:~:text=A%20human%20male%20has%20two,and%20aren't%20considered%20homologous>

42. Tetraploid–diploid mosaicism in a patient with pigmentary anomalies of hair and skin: a new dermatologic feature / J. P. Schacht et al. Wiley Online Library. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ccr3.1114>

43. Tetraploidy in the era of molecular karyotyping - What we need to remember / J. Bothur-Nowacka et al. ResearchGate. URL: https://www.researchgate.net/publication/258079969_Tetraploidy_in_the_era_of_molecular_karyotyping_-_What_we_need_to_remember/figures

44. The Changing Face of Turner Syndrome / C. H. Gravholt et al. Oxford Academic. URL: <https://academic.oup.com/edrv/article/44/1/33/6607573>
45. The mechanics of mitotic chromosomes / T. Man et al. Cambridge University Press. URL: <https://www.cambridge.org/core/journals/quarterly-reviews-of-biophysics/article/mechanics-of-mitotic-chromosomes/87BCAF729E0B8107027EA449B4CE6AE4>
46. Turner H. H. A syndrome of infantilism, congenital webbed neck, and cubitus valgus. 403 Forbidden. URL: <https://static1.squarespace.com/static/54694fa6e4b0eaec4530f99d/t/54fe3717e4b0e762cd9e97bf/1425946391946/Original+paper+by+Turner+1938.pdf>
47. Unique structure is found in human chromosome DNA sequences. OSF. URL: <https://osf.io/preprints/osf/re5qw>

АНОТАЦІЯ

Робота викладена на 50 сторінках друкованого тексту, містить 28 рисунків та 1 таблицю.

Ключові слова: хромосоми, центромерний індекс, мозаїцизм.

Метою роботи є характеристика розмірних параметрів хромосом 1, 2, 3 та X у жінок з нормальним каріотипом і при мозаїцизмі 45,X/46,XX та оцінка варіабельності центромерного індексу для цих хромосом.

В результаті виконання зібрано вибірку фотографій метафазних хромосом п'ятих генетично здорових жінок і п'ятих з мозаїчним синдромом Шерешевського-Тернера. Для кожної особи проаналізовано по 10 метафазних пластинок та візуально на кожній встановлено хромосоми 1, 2, 3 та X. Здійснено виміри довжин хромосом 1, 2, 3 та X та їх плечей на фото метафазних пластинок за допомогою програмного забезпечення TourView та за результатами вимірів розраховано центромерний індекс для кожної хромосоми. Розрахований в обраний спосіб центромерний індекс дозволив кваліфікувати хромосому 1 та 3 як метацентричні, а хромосоми 2 та X – як субметацентричні. Статистично значущі відмінності за центромерним індексом хромосом 1, 2, 3 та X між пацієнтками з нормальним каріотипом та з мозаїчним відсутні.

ANNOTATION

Keywords: chromosomes, centromere index, mosaicism.

The aim of the study is to characterize the dimensional parameters of chromosomes 1, 2, 3, and X in women with normal karyotype and mosaicism 45,X/46,XX and to assess the variability of the centromere index for these chromosomes.

As a result, a sample of metaphase chromosome photographs of five genetically healthy women and five women with Sherechevsky-Turner mosaic syndrome was collected. For each individual, 10 metaphase plates were analyzed and chromosomes 1, 2, 3, and X were visually identified on each plate. The lengths of chromosomes 1, 2, 3, and X and their arms were measured in the metaphase plate photos using ToupView software, and the centromere index for each chromosome was calculated based on the measurement results. The centromere index calculated in this way allowed chromosomes 1 and 3 to be classified as metacentric, and chromosomes 2 and X as submetacentric. There were no statistically significant differences in the centromere index of chromosomes 1, 2, 3, and X between patients with a normal karyotype and those with a mosaic karyotype.