

не чувствительных к данному препарату (52 и 58 % штаммов соответственно).

Обобщая полученные данные, можно сделать следующие выводы:

1. Препаратами, активными в отношении большинства грамотрицательных бактерий госпитальной флоры, остаются карбапенемы, грамположительной флоры – ванкомицин. Природная чувствительность *C. albicans* к флуконазолу позволяет использовать данный препарат при грибковых инвазиях, вызванных данным видом возбудителя;

2. Среди госпитальной флоры встречаются штаммы *P. aeruginosa*, резистентные ко всем антибактериальным препаратам, применяемым в клинической практике.

Список литературы

1. Козлов Р.С. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, профилактика, контроль // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – Смоленск: Изд-во «МАКМАХ», 2000. – № 2. – С. 16–27.

2. Руководство по инфекционному контролю в стационаре: Пер. с англ. / Под ред. Р.П. Венцсла. – Смоленск: МАКМАХ, 2003. – 828 с.

И.В. Рыбина, Е.В. Рыбакова,
Е.П. Неволипа, Я.Б. Бейкин
Центр лабораторной диагностики,
Институт иммунологии
и физиологии УрО РАН

РЕЗУЛЬТАТЫ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В 2002–2004 гг.

Обследование лиц с нарушением репродуктивной функции
У пациентов с генетическими нарушениями репродуктивной функции довольно часто встречаются синдромы, связанные с аномалиями половых хромосом. Исследования, проведенные у пациентов мужского и женского пола, свидетель-

ствуют, что аномалии хромосом *X* и *Y* составляют около 2/3 всех хромосомных нарушений. Частота синдромов, связанных с аномалиями половых хромосом, составляет 4,6 на 1 000 новорожденных [3].

Известно, что около 5–15 % мужчин с бесплодием и нарушением сперматогенеза имеют хромосомные нарушения, аномалии половых хромосом составляют – 75 %, аномалии аутосом – 25 % [1,3].

В последнее время стремительное развитие вспомогательных репродуктивных технологий ставит на повестку дня вопрос о необходимости расширения наших знаний о причинах бесплодия и риске его передачи потомству. Несмотря на возросший интерес к исследованию генетических аспектов нарушения репродуктивной функции у человека, при обсуждении организационных принципов дифференциальной диагностики нарушения полового развития и бесплодия медико-генетическому консультированию по-прежнему отводится одно из последних мест в схеме обследования пациента, либо оно вообще не предполагается.

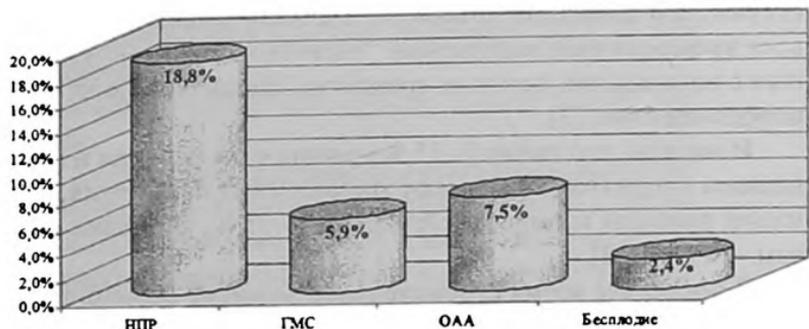
Ниже приведены результаты многолетнего обследования пациентов с нарушением полового развития и (или) бесплодием, направленных для проведения дифференциальной диагностики в лабораторию клинической генетики Центра лабораторной диагностики болезней матери и ребенка г. Екатеринбурга.

Традиционно для нашей лаборатории среди обследуемых взрослых пациентов преобладают супружеские пары с невынашиванием беременности и отягощенным акушерским анамнезом. Вторую по величине группу образуют супружеские пары с диагнозом бесплодие.

При обследовании аномалии кариотипа были выявлены в 7,0 % случаев.

Хромосомные дефекты были обнаружены в четырех группах пациентов со следующими видами нарушений (рис. 1):

1. Нарушения полового развития.
2. Женщины с гипоменструальным синдромом.
3. Супружеские пары с бесплодием.
4. Супружеские пары с отягощенным акушерским анамнезом.



Р и с. 1. Хромосомные аномалии у лиц с нарушением репродукции

В 90 % случаев обнаруженные аномалии относились к сбалансированным структурным перестройкам хромосом, и лишь 10 % пришлось на долю численных нарушений.

У лиц с нарушением репродуктивной функции выявлены хромосомные синдромы, в основе которых лежит изменение числа или структуры половых хромосом. К ним относятся синдром Шерешевского–Тернера, синдром Клайнфельтера, синдром полисомии X-хромосомы, синдром Морриса, синдром де ля Шапеля.

Приведем описание некоторых случаев выявленных хромосомных аномалий. У одной из пациенток была выявлена достаточно редкая структурная аномалия – кольцевая X-хромосома. Образование кольца связано с утратой теломерных сегментов хромосомы как на коротком, так и на длинном плечах. В результате короткие плечи слипаются с длинными плечами, и возникает фигура, по конфигурации напоминающая кольцо. Таким образом, носитель кольцевой хромосомы имеет частичную моносомию по утраченному фрагменту короткого плеча и частичную моносомию по фрагменту длинного плеча. Описанное нарушение относится к одному из цитогенетических вариантов синдрома Шерешевского–Тернера. Синдром встречается с частотой 1 на 2 500–3 000 новорожденных девочек [1]. Классический вариант заболевания является следствием моносомии X-хромосомы, что впервые было показано в 1959 г. Ford с соавторами. В нормальном женском кариотипе гоносомы представлены двумя X-хромосомами, для синдрома Шерешевского–Тернера характерно наличие одной нормальной X-хромо-

сомы, а вторая половая хромосома либо отсутствует, либо она структурно изменена. Утерянная X-хромосома чаще имеет отцовское происхождение. Наиболее частые клинические признаки синдрома: отсутствие гонад, гипоплазия матки и фаллопиевых труб, первичная аменорея, скудное оволосение лобка и подмышечных впадин или его отсутствие, недоразвитие грудных желез, бесплодие. Многочисленные нарушения наблюдаются и со стороны соматического статуса.

У пациента с нарушением полового развития, направленного на цитогенетическое исследование андрологом, был выявлен мужской кариотип, имеющий в своем составе 3 клеточных линии: 1) с нормальным мужским кариотипом, 2) с одной дополнительной X-хромосомой и 3) с двумя дополнительными X-хромосомами (46,XY/47,XXY/48,XXX). Это достаточно редко встречающийся вариант синдрома Клайнфелтера. Частота данного синдрома 2–2,5 на 1000 новорожденных мальчиков, несколько меньше – среди взрослых в связи с более высокой летальностью лиц с аномальным кариотипом в раннем детстве [1,4]. В двух случаях у пациентов был выявлен мозаичный кариотип с присутствием клона клеток, характерного для синдрома Клайнфелтера, и с клоном клеток, соответствующим нормальному женскому кариотипу 47,XXY/46,XX. Вероятнее всего, такой хромосомный набор явился результатом потери Y-хромосомы на самых ранних стадиях эмбрионального развития. Зигота, по-видимому, имела кариотип 47,XXY, но после утраты Y-хромосомы часть клеток получила женский набор хромосом 46,XX.

У одного из описанных выше пациентов процентное соотношение клонов составило: 90 % клетки с кариотипом 46,XX и лишь 10 % клетки с кариотипом 47,XXY. Каково истинное распределение клеток с разным кариотипом у данного мужчины не установлено, т. к. цитогенетическому исследованию были подвергнуты только лимфоциты периферической крови. Но, поскольку фенотип обратившегося пациента сформирован по мужскому типу, можно предположить, что в гонадах преобладал клон с Y-хромосомой.

В этой же группе пациентов с нарушением полового развития был диагностирован синдром Морриса (синдром полной тестикулярной феминизации), проявляющийся несоответ-

ствием фенотипического и генетического пола. Пациентка, имевшая фенотипически женский пол, имела мужской набор хромосом (46,XY). Это редкое генетическое заболевание, встречающееся с частотой 1 на 65 000 населения. Причиной заболевания является дефект андрогенных рецепторов. Тип наследования – рецессивный, сцепленный с X-хромосомой [1].

У мужчины с гипогонадизмом был выявлен кариотип с уменьшением размеров длинного плеча Y-хромосомы. При классическом цитогенетическом исследовании достаточно сложно определить, с чем мы имеем дело: возможно, это вариант хромосомного полиморфизма (уменьшение гетерохроматинового блока) и тогда гипогонадизм не связан с имеющимся вариантом Y-хромосомы. А возможно, это структурная перестройка – микроделеция гена азооспермии (AZF-ген), который локализован в длинном плече Y-хромосомы как раз на границе с гетерохроматиновым блоком. При цитогенетическом анализе у мужчин с нарушением репродукции установление того, к какому варианту относится Y-хромосома (полиморфизм или микроделеция), имеет принципиально важное значение. Окончательно выяснить природу укороченного варианта Y-хромосомы позволяют только молекулярно-генетические методы исследования (ПЦР или FISH), необходимость внедрения которых в лаборатории генетики назрела.

Большинство находок сбалансированных структурных перестроек кариотипа приходится на группу супружеских пар с невынашиванием беременности и бесплодием. Именно такие сбалансированные структурные перестройки хромосом, при которых не происходит потери или приобретения дополнительного генетического материала, представляют собой наибольший интерес для медико-генетического консультирования. Носители данных перестроек не имеют ярких фенотипических проявлений, чаще всего это нормальный фенотип, в некоторых случаях возможно присутствие небольших стигм. Главным проявлением носительства таких измененных вариантов кариотипа являются нарушения репродукции (бесплодие, самопроизвольные выкидыши, мертворождения, рождение детей с врожденными пороками развития). В основе нарушения репродуктивной функции у данных пациентов лежит аномальное

поведение измененных хромосом в гаметогенезе, в результате чего возникают варианты гамет с несбалансированным хромосомным набором, т. е. имеющих недостаток по одним хромосомам и избыток по другим. Отбор против несбалансированных зигот зависит от типа и масштаба хромосомного дисбаланса; очень крупный дисбаланс будет приводить к ранней и нераспознаваемой гибели эмбрионов. Умеренный дисбаланс приведет к диагностируемому спонтанному аборт. Частота выкидышей увеличивается особенно в том случае, если носителем несбалансированного набора является мать. Это может быть связано с отсутствием у женщин гаметического отбора.

У двух женщин была выявлена Робертсоновская транслокация между 13 и 14 хромосомами. Запись их кариотипа выглядит следующим образом: *45,XX,der(13;14)*. В мейозе у женщины с подобным кариотипом возможно образование нормальных гамет, несущих 13 и 14 хромосомы без транслокации, сбалансированных гамет с транслокацией, в обоих случаях возможно рождение здорового потомства. Но остается вероятность формирования несбалансированных гамет. В случае если в одну гамету попадет перестроенная хромосома и нормальный гомолог 13 хромосомы возможны два варианта развития событий: либо аномальный плод abortируется, либо родится ребенок с синдромом Патау (трисомия по 13 хромосоме), риск рождения больного ребенка в данном случае составляет 2–3 %. В ситуации, когда в гамету попадают транслоцированная хромосома и нормальный гомолог 14 хромосомы и эта гамета будет успешно оплодотворена, беременность закончится спонтанным аборт, т. к. трисомия по 14 хромосоме не совместима с постнатальной жизнью.

Обследование детей с врожденными пороками развития

Роль хромосомной патологии в пренатальной гибели эмбрионов или плодов и в общем грузе множественных врожденных пороков развития у новорожденных велика. На 1000 живорожденных младенцев приходится 3–4–7 имеющих хромосомные болезни. Среди детей с множественными врожденными пороками развития 35–40 % имеют хромосомные аномалии. В общей группе новорожденных с пороками развития хромосомные аномалии встречаются в 9,5 % случаев [2].

С 1999 г. в Екатеринбурге по инициативе Городского управления здравоохранения действует программа «Мониторинг за врожденными пороками развития на территории г. Екатеринбурга». В соответствии с этой программой в лабораторию поступает материал от новорожденных с врожденными пороками развития для исключения хромосомных нарушений.

За период действия программы в лабораторию был направлен материал от 627 детей. Самой обширной является группа новорожденных с различными вариантами врожденного порока сердца (32 %). Вторую по величине группу образуют дети с врожденными вывихами суставов и костно-мышечной косолапостью (14 %), третья группа составлена детьми с крипторхизмом и гипоспадией (13 %). В большую группу «прочие пороки» (23 %) вошли одиночные диагнозы (например: незаросший эпителиальный ход, грыжа левой почки и т. п.).

В проанализированном материале от новорожденных с ВПР аномальные кариотипы были выявлены в 7,9 % случаев.

Среди выявленной патологии у новорожденных на долю численных аномалий кариотипа пришлось 60 %, на долю структурных — 40 %. Среди хромосомных синдромов, диагностированных в лаборатории были синдромы Дауна, Эдвардса, Патау, синдром Клайнфельтера, Шерешевского—Тернера, синдром полисомии Y-хромосомы, синдром трисомии хромосомы 8.

Кроме перечисленных хромосомных синдромов у новорожденных с ВПР, как и у лиц с нарушением фертильности, встречаются варианты сбалансированных хромосомных перестроек: транслокаций и инверсий.

Так, у новорожденного с врожденной косолапостью была выявлена реципрокная транслокация с участием 9 и 14 хромосом $46,XY,t(9;14)$. Чтобы понять, связано ли появление ВПР с данной структурной аномалией, необходимо уточнить происхождение транслокации.

Возможны два варианта событий. В первом случае, возможно, имеет место семейное носительство сбалансированной транслокации, т. е. один из фенотипически здоровых родителей имеет такую же перестройку. Носитель транслокации пе-

редал ее своему сыну. В данной ситуации врожденный порок вероятнее всего не связан с перестройкой хромосом, т. к. родитель, имеющий такую же транслокацию, здоров. В ситуации когда кариотип родителей нормален, мы имеем дело с мутацией *de novo* в гаметогенезе одного из родителей. В этом случае возникновение порока развития, вполне вероятно, является следствием изменения кариотипа. Чтобы понять, с каким из вариантов мы столкнулись, необходимо провести цитогенетическое обследование обоих родителей.

У новорожденного с крипторхизмом описан вариант укороченной *Y*-хромосомы, который, как и в вышеописанном случае с взрослым пациентом с нарушением репродукции нуждается в уточнении происхождения варианта *Yq*-, что возможно только с помощью ПЦР или FISH.

Помимо новорожденных, в лабораторию был направлен на цитогенетический анализ материал от детей пубертатного периода с нарушением или задержкой полового развития, что является прямым показанием к исследованию кариотипа. Аномалии кариотипа выявлены в 15,4 % случаев.

У девочки с нарушением полового развития был выявлен редкий вариант мозаичного кариотипа, являющегося одним из цитогенетических вариантов синдрома Шерешевского—Тернера. В описываемом кариотипе присутствовали 2 клон клеток: первый содержал 45 хромосом, с одной половой *X*-хромосомой; второй клон клеток содержал 46 хромосом с одной нормальной *X*-хромосомой и структурно измененной *Y*-хромосомой, а именно с изо-*Y*-хромосомой по длинному плечу. Вероятнее всего, зигота имела нормальный мужской кариотип, но под воздействием каких-то факторов произошла структурная перестройка *Y*-хромосомы с образованием изохромосомы, которая в дальнейшем в части клеток была утеряна. Развитие женского фенотипа в присутствии двойной дозы длинного плеча *Y*-хромосомы и моносомии по материалу короткого плеча связано с тем, что *SRY*-ген, отвечающий за развитие внутренних половых органов по мужскому типу локализован именно на недостающем коротком плече *Y*.

Кариотипирование гемобластозов

Важная роль цитогенетического анализа при острых лейкозах стала в последнее десятилетие общепризнанной, поскольку

ку его данные позволяют уточнить вариант заболевания, проводить динамическое наблюдение за больным в период ремиссии и рецидива, оценивать прогноз. Последнее особенно важно для планирования адекватной, в том числе высокодозной терапии. Как указано в практических рекомендациях Комитета по острым лейкозам, разработанных специалистами ведущих онкологических центров США, «цитогенетическое исследование обязательно следует проводить у всех первичных больных острыми лейкозами» [5].

В 2002–2004 гг. из отделения гемобластозов ЦГБ № 7 поступил на исследование материал от 113 человек. В 51,4 % случаев были выявлены нарушения в системе хромосом. В отличие от пациентов с нарушением репродукции у онкогематологических больных в большинстве случаев встречаются множественные хромосомные аномалии, которые отражают процесс клональной эволюции, идущей у обследуемых, что является прогностически очень неблагоприятным признаком.

Кроме того, цитогенетическое исследование было использовано для контроля за приживлением трансплантата костного мозга. Был обследован мужчина, перенесший трансплантацию костного мозга. В качестве донора выступила родная сестра больного. Т. к. реципиент и донор различаются по набору половых хромосом, то методом кариотипирования можно выявить степень приживаемости трансплантата. В исследуемом материале (периферическая кровь) в 100 % случаев были выявлены клетки, содержащие женский кариотип, что указывает на успешное приживление трансплантата.

Список литературы

1. Бенникова Е.А., Бужиевская Т.И., Сильванская Е.М. Генетика эндокринных заболеваний. — Киев: Наукова думка, 1993. — 400 с.
2. Бочков Н.П. Клиническая генетика. — М.: Гэотар-мед, 2001. — 447 с.
3. Ворсанова С.Г., Шаронин В.О., Курило Л.Ф. Аномалии половых хромосом при нарушении репродуктивной функции у мужчин // Проблемы репродукции. — 1998. — Т. 4. — № 2. — С. 12–18.

4. Козлова С.И., Демикова Н.С., Семанова Е., Блинникова О.Е. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование. – М.: Практика, 1996. – 410 с.

5. Клиническая онкогематология. – М.: «Медицина», 2001. – 700 с.

Л.Г. Черных
Областная детская
клиническая больница №1

ГОРМОНАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ СОМАТОТРОПНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ДЕТЕЙ

Задержка роста у детей может быть следствием как эндокринных, так и не эндокринных заболеваний. Чрезвычайно актуальным является вопрос дифференциальной диагностики вариантов нанизма с целью выявления больных с дефицитом гормона роста. Хотя гормон роста является основным гормоном, регулирующим рост человека, низкорослость не всегда является следствием его дефицита или недостаточной активности. Как следует из антропометрических критериев, 3 % популяции имеет низкий рост, тогда как распространенность СТГ-дефицита не превышает 1:5000 (Rona R.A., 1996). Поэтому необходима тщательная оценка функции соматотрофов. Выраженное отставание в росте и метаболические нарушения, связанные с множественным дефицитом гипофизарных гормонов, приводят к ранней инвалидизации детей.

Поздняя диагностика данных нарушений, а также отсутствие своевременной и адекватной терапии делают невозможными медицинскую и социальную реабилитации. Больные испытывают значительные трудности психологической адаптации в детских коллективах, что приводит к депрессии и впоследствии – к социальной изоляции. Профессиональная невостребованность влечет за собой резкое снижение качества жизни.

С момента создания рекомбинантных препаратов гормона роста имеется реальная возможность полноценной социаль-