УДК 618.33:575.224.23]-008.853.2

DOI: 10.31549/2541-8289-2021-4-19-22

ЯДРО ЛИМФОЦИТА КАК ИНСТРУМЕНТ МОНИТОРИРОВАНИЯ ПОПУЛЯЦИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГРУПП РИСКА ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИИ ПЛОДА

Ясакова Н.Т., Машак С.В., Лисиченко О.В., Залавина С.В., Саматова И.М.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

В сравнительном аспекте изучены морфологические особенности ядер лимфоцитов периферической крови здоровых доноров и биологических родителей лиц с дефицитом хромосомного материала. Обнаруженные отличия могут быть использованы в целях мониторинга генетического гомеостаза при популяционных исследованиях.

Ключевые слова: лимфоцит, ядро, скрининг, хромосомы.

LYMPHOCYTE NUCLEUS AS POPULATION MONITORING TOOL FOR IDENTIFYING FETAL CHROMOSOME PATHOLOGY RISK GROUPS

Yasakova N.T., Mashak S.V., Lisichenko O.V., Zalavina S.V., Samatova I.M.

Novosibirsk State Medical University

In a comparative aspect, the morphological features of the nuclei of peripheral blood lymphocytes of healthy donors and biological parents of persons with a deficiency of chromosomal material have been studied. The differences found can be used to monitor genetic homeostasis in population studies.

Keywords: lymphocyte, nucleus, screening, chromosomes.

ВВЕДЕНИЕ

Врожденная и наследственная патология приобретает все большее медицинское и социальное значение. Хромосомные аномалии часто сопровождаются выраженными фенотипическими проявлениями и врожденными пороками развития, хотя их не всегда можно обнаружить при ультразвуковом скрининге. Так, по данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодная доля рождений детей с врожденными пороками развития (ВПР) в мире составляет 3–6 %. В половине случаев это летальные и тяжелые аномалии, лидирующие по ухудшению качества здоровья и неблагоприятному прогнозу жизнеспособности [1]. Цитогенетический мониторинг

позволяет определить группы высокого риска по цитогенетическим нарушениям, а также индивидов с повышенным уровнем нестабильности генома. Скрининг такого рода важен для определения групп высокого риска хромосомной патологии плода, что особенно важно при прогнозировании повторения ситуации при последующих беременностях. Специфичность и чувствительность скрининговых тестов очень важны, учитывая возможность ложноположительных и ложноотрицательных результатов. В последнее время повышенный интерес вызывает использование лимфоцитов периферической крови как удобный объект мониторинга генетического гомеостаза индивидуума [2–4]. Предыдущие

Автор, ответственный за переписку

Ясакова Наталья Тихоновна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52.
E-mail: jasakova@inbox.ru

Corresponding author

Yasakova Natalya Tikhonovna: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: jasakova@inbox.ru

© ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, 2021

исследования показали перспективность изучения ядра лимфоцита при патологии различного рода [5, 6].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление морфометрических характеристик эу- и гетерохроматина в ядрах лимфоцитов периферической крови здоровых доноров репродуктивного возраста и родителей пациентов, имеющих кариотип 45,X.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оптико-структурный машинный анализ (ОСМА) разработан К.М. Богдановым (1966). Автоматизированные устройства для ОСМА представляют собой систему сканирующей оптической микроскопии и включают в себя сканирующий микроскоп-фотометр с блоками управления и расширенный комплекс ЭВМ. Важнейшее условие ОСМА — строгая стандартизация. Для цитофотометрии использовали стекла стандартной толщины. Полученный препарат фиксировали в растворе этанола и уксусной кислоты в соотношении 3:1 в течение 8 мин, в дальнейшем проводили реакцию Фёлгена, признанную одной из наиболее специфических гистохимических реакций для выявления ДНК.

Методом оптико-структурного машинного анализа изучены окрашенные по методу Фёлгена ядра лимфоцитов периферической крови (ЛПК) здоровых доноров и родителей лиц с кариотипом 45,X. Всего изучено более 2000 лимфоцитов. В группе здоровых доноров обследовано 5 (3 мужчины и 2 женщины) чел. в возрас-

те от 25 до 45 лет. В группе родителей, имеющих детей с кариотипом 45,X, обследованы родительские пары в возрасте от 30 до 45 лет (4 наблюдения). В сравнительном аспекте проанализированы первичные морфометрические параметры лимфоцитов периферической крови: количество эу- и гетерохроматина, оптическая плотность гетерохроматина. Вычислены вторичные морфометрические показатели — коэффициент деформации гетерохроматиновых структур. Этот показатель представляет собой соотношение компактного и диффузного хроматина.

Статистический анализ проводился с использованием программы INSTAT V.07.07, разработанной в Институте клинической иммунологии СО РАМН И.Б. Беланом, Т.В. Елисеевой и Е.Н. Наумовой. Достоверность различий сравниваемых величин определяли по t -критерию Стьюдента. В тех случаях, когда изучаемые параметры не подчинялись закону нормального распределения, для оценки достоверности использовали непараметрический критерий Вилкоксона — Манна — Уитни, проводили непараметрические сравнения рядов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты показывают, что при хромосомной патологии ребенка уменьшается периметр ядра лимфоцита его биологических родителей по сравнению со здоровыми донорами (рис. 1).

Кроме того, в ядрах лимфоцитов биологических родителей достоверно возрастает количество конденсированного, генетически неактив-

Рис. 1. Периметр ядер лимфоцитов (мкм) в норме и при кариотипе 45,X

Рис. 2. Соотношение диффузного и компактного хроматина ядер лимфоцитов в норме и при кариотипе 45,X

ного хроматина ($8,56 \pm 0,12$ и $9,03 \pm 0,18$ усл. ед.), а также его средняя оптическая плотность ($0,55 \pm 0,01$ и $0,59 \pm 0,00$ усл. ед.) соответственно. Гетерохроматиновые структуры в ядрах лимфоцитов при хромосомной патологии более крупнозернистые, что подтверждается уменьшением показателя их суммарного периметра ($16,78 \pm 0,27$ и $15,86 \pm 0,23$ мкм соответственно). Коэффициент деформации гетерохроматиновых структур, отражающий адаптивный потенциал клетки, по сравнению со здоровыми донорами также снижен: $1,19 \pm 0,01$ и $1,15 \pm 0,01$ соответственно.

Также весьма показательно изменение соотношения компактного и диффузного генетически активного хроматина. У биологических родителей его доля по сравнению со здоровыми донорами достоверно снижена, что указывает на сниженную транскрипционную активность генетического аппарата (рис. 2).

Полученные данные свидетельствуют о существенных изменениях в работе генетического аппарата родителей лиц с хромосомной патологией. В ядрах зрелых лимфоцитов периферической крови увеличена доля гетерохроматина, что свидетельствует о низком уровне в них транскрипционной активности. Подобные изменения, по нашему мнению, могут свидетельствовать о формировании иммунной патологии у пациентов с кариотипом 45,X.

Необходимо подчеркнуть, что выявленные изменения в структуре ядра морфологически выявить практически невозможно, они становятся очевидными при проведении оптико-структурного машинного компьютерного анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что метод оптико-структурного машинного анализа ядер лимфоцитов периферической крови может быть использован при проведении скрининговых популяционных исследований для мониторингирования генетического гомеостаза в избранных группах населения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Староверова Е.Г. Пренатальная диагностика хромосомной патологии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Н. Новгород, 2003. 20 с.
2. Гайнер Т.А., Карамышева Т.В., Каримова О.Г. и др. Комплексная диагностика хромосомной патологии — деривата хромосомы 4 и малой сверхчисленной маркерной хромосомы // Медицинская генетика. 2017. Т. 16, № 12. С. 9–17.
3. Ильинских Н.Н., Ильинских Е.Н., Замятина Е.В., Ли С.В. Мониторинг цитогенетической нестабильности методом микроядерного анализа иммунокомпетентных и не иммунокомпетентных клеток у больных клещевым энцефалитом в зависимости от наличия в генотипе вариантов генов глутатион-S-трансферазы // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 3-4. С. 600–606. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-3-4-600-606.
4. Ильинских Н.Н., Ксенц А.С., Ильинских Е.Н. и др. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности. Томск: Национальный исследовательский Томский государственный университет, 2011. 312 с.
5. Дудина М.А., Догадин С.А., Савченко А.А. Особенности внутриклеточного метаболизма лимфоцитов крови у больных активной акромегалией.

ей // Фундаментальные исследования. 2014. № 10 (ч. 8). С. 1490–1493.

6. Ясакова Н.Т., Машак С.В. Хроматиновая конституция лимфоцитов млекопитающих (сравнительный анализ). Актуальные вопросы и достижения современной антропологии: материалы Всерос. науч. конф. Новосибирск, 2008. С. 103–104.

Поступила 24.06.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ясакова Наталья Тихоновна — д-р биол. наук, профессор кафедры медицинской генетики и биологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Лисиченко Ольга Вадимовна — канд. мед. наук, доцент кафедры медицинской генетики и биологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Машак Светлана Владимировна — д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и

цитологии им. проф. М.Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Саматова Инна Михайловна — канд. мед. наук, доцент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М.Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Залавина Светлана Васильевна — д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М.Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Образец цитирования: Ясакова Н.Т., Машак С.В., Лисиченко О.В., Залавина С.В., Саматова И.М. Ядро лимфоцита как инструмент мониторинга популяции для выявления групп риска хромосомной патологии плода // Сиб. мед. вестн. 2021. № 4. С. 19–22. DOI: 10.31549/2541-8289-2021-4-19-22.