

Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования недифференцированных форм умственной отсталости у детей

И.А. Демидова, С.Г. Ворсанова, И.Ю. Юров, А.К. Берешева, А.Д. Колотий, В.С. Кравец, Ю.Б. Юров

Cytogenetic and molecular-cytogenetic investigations in children with non-differential forms of mental retardation

I.A. Demidova, S.G. Vorsanova, I.Yu. Yurov, A.K. Beresheva, A.D. Kolotii, V.S. Kravets, Yu.B. Yurov

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии; Научный центр психического здоровья РАМН, Москва

Проведено цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое исследование у 3593 детей с недифференцированными формами умственной отсталости, множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития. Помимо хромосомных аномалий с помощью методов С-окрашивания и количественной флуоресцентной гибридизации *in situ* были выявлены изменения в отдельных гетерохроматиновых районах хромосом в виде их экстремального увеличения или уменьшения (хромосомные варианты) и инверсии околоцентромерного гетерохроматина хромосом 1, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 21, 22 и Y. Показано достоверное увеличение частоты хромосомных вариантов и инверсий околоцентромерного гетерохроматина у детей с умственной отсталостью по сравнению с нормальной популяцией (24,4 и 4–6% соответственно). Варианты по хромосоме 9 в нашей работе обнаружены в наибольшем числе случаев — 8,3%. Определение геномных вариаций, вероятно, значимо для выявления группы риска и идентификации генетических маркеров при недифференцированных формах умственной отсталости, сочетающейся с множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития у детей.

Ключевые слова: умственная отсталость, цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования, хромосомные варианты.

Cytogenetic and molecular-cytogenetic investigations were performed in 3593 children with non-differentiated forms of mental delay, multiple congenital malformations and/or microabnormalities. Besides chromosomal aberrations, methods of C-banding and quantitative fluorescent hybridization *in situ* (FISH) detected changes of chromosomal heterochromatin in the form of extremal increase or decrease (chromosomal variants) and inversions of pericentromeric heterochromatin of chromosomes 1, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 21, 22 and Y. Comparison of these data with those in normal populations showed reliable increase of frequency of chromosomal variants (24,4% and 4–6%, respectively). Variants of chromosome 9 in this research were the most frequent — 8,3%. Detection of chromosomal variations is probably important for estimation of groups of high risk and identification of genetic markers in non-differentiated forms of mental retardation with MCM and/or microabnormalities in children.

Key words: mental retardation, cytogenetic and molecular-cytogenetic investigations, chromosomal variations.

Изучение этиологии недифференцированных форм умственной отсталости с множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития и диагностика этих состояний остаются актуальными до настоящего времени. Медицинская цитогенетика вносит большой вклад в изучение недифференцированных форм умственной отсталости у детей, выделяя новые дифференцированные формы. Частота хромосомных аномалий среди детей с такой патологией по данным разных авторов составляет 8–20% [1–5]. Помимо хромосомных аномалий у детей с умствен-

ной отсталостью выявляется повышенная частота изменений в гетерохроматиновых районах отдельных хромосом в виде их экстремального увеличения или уменьшения (хромосомные варианты) и инверсии околоцентромерного гетерохроматина хромосом 1, 9, 13–17, 21, 22 и Y.

Известно давно, что хромосомы человека характеризуются ярко выраженным межиндивидуальным полиморфизмом благодаря вариабельности размеров гетерохроматиновых районов. Однако структура и функции гетерохроматиновых участков хромосом до настоящего времени недостаточно изучены. Тем не менее имеется достаточно указаний на то, что широкая вариабельность гетерохроматиновых районов хромосом характерна для некоторых патологических состо-

© Коллектив авторов, 2009

Ros Vestn Perinatol Pediat 2009; 1:69–75

Адрес для корреспонденции: 125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

РОССИЙСКИЙ ВЕСТНИК ПЕРИНАТОЛОГИИ И ПЕДИАТРИИ, 1, 2009

ний, в том числе для недифференцированных форм умственной отсталости с множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития [2—7]. Поэтому целью настоящей работы явилось определение возможных ассоциаций полиморфизма гетерохроматиновых околоцентромерных районов хромосом и недифференцированных форм умственной отсталости, сочетающейся с множественными врожденными пороками и микроаномалиями развития, с помощью методов С-окрашивания и количественной флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Характеристика детей и методы исследования

Объектом исследования стали дети с задержкой психомоторного и физического развития (недифференцированными формами умственной отсталости), множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития, проходившие обследование в различных отделениях Московского НИИ педиатрии и детской хирургии. Цитогенетическое исследование проведено 3593 детям (1962 мальчика и 1631 девочка) в возрасте от рождения до 18 лет. Соотношение полов 1,2 [8]. Средний возраст детей 4,8 года.

Для обследования детей были использованы цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы. Препараты метафазных хромосом получали из лимфоцитов периферической крови, культивируемых *in vitro* стандартным методом [9]. Цитогенетический анализ проводили на хромосомных препаратах с использованием светового микроскопа при увеличении 1125. Хромосомы идентифицировали при помощи дифференциального окрашивания хромосом по длине — G- и C-методы, которые осуществлялись по общепринятым протоколам [10, 11]. В каждом случае анализировали не менее 11 метафазных пластинок. Помимо хромосомных аномалий в кариотипе учитывали хромосомные варианты и инверсии околоцентромерного гетерохроматина. Хромосомным вариантом считали наличие в одной из хромосом увеличения или уменьшения околоцентромерного гетерохроматина (С-блока) по сравнению с гомологом, оцениваемого в 1 или 5 баллов. Оценку величины блока С-гетерохроматина осуществляли полуквантитативным методом по «Системе учета размеров гетерохроматиновых участков хромосом 1, 9, 16 и Y и хромосом групп D и G» [12].

Молекулярно-цитогенетическую диагностику проводили с применением количественной FISH и оригинальных ДНК-проб, специфически маркирующих вариабельные участки гетерохроматина хромосом 1, 9 и 16 [13—15]. Детекцию флуоресцентных сигналов осуществляли с использованием флуоресцентного микроскопа, оборудованного

соответствующим набором фильтров и системой компьютерного анализа изображений (CCD-камерой). При количественной оценке гибридизационных сигналов и сравнении хромосомных вариантов использовали оригинальный протокол быстрой количественной FISH [15].

Статистическую обработку данных проводили стандартными для медико-биологических исследований методами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных цитогенетических исследований у 3593 детей с задержкой психомоторного и физического развития, множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития помимо хромосомных аномалий были выявлены хромосомные варианты и инверсии околоцентромерного гетерохроматина хромосом 1, 9, 13—17, 21, 22 и Y. У обследованных детей нами обнаружены следующие изменения гетерохроматиновых районов хромосом: 1p_hqh, 1qh⁺, 1qh[—], 9p_h, 9p_hqh, 9qh⁺, 9qh[—], 13cen_h⁺, 13cen_h[—], 13pst_k⁺, 13ps⁺, 14cen_h⁺, 14cen_h[—], 14pst_k⁺, 14ps⁺, 14ps[—], 15p_hqh, 15cen_h⁺, 15cen_h[—], 15pst_k⁺, 15ps⁺, 15ps[—], 16qh⁺, 16qh[—], 17ps, 21cen_h⁺, 21cen_h[—], 21pst_k⁺, 21ps⁺, 21ps[—], 22cen_h⁺, 22pst_k⁺, 22ps⁺, 22ps[—] и Yqh⁺, Yqh[—], т.е. 36 различных вариантов изменений по 10 хромосомам из 5 различных групп (A, C, D, E и G группы). Удельный вес всех хромосомных вариантов и инверсий околоцентромерного гетерохроматина у этих детей составлял 24,4% от общего числа (3593) обследованных, что значительно выше, чем в нормальной популяции по данным литературы — до 4—6% [16, 17].

Частота изменений по отдельным хромосомам и соотношение полов обследованной когорты детей представлены в табл. 1. Результаты показывают, что не зарегистрировано значимых различий в частоте хромосомных вариантов в зависимости от пола. Это позволило объединить полученные данные для мальчиков и для девочек.

Как видно из табл. 1, изменения гетерохроматина хромосомы 1 встречались в 3,9% случаев, хромосомы 9 — в 8,3%, хромосомы 16 — в 1,4%, других хромосом — в 2,7% и в сочетании 2 вариантов и более — в 6,7% случаев. Максимальное число вариантов, которое было обнаружено нами у одного индивидуума, равнялось пяти. Такое сочетание изменений гетерохроматина было выявлено у одного ребенка, что составляет 0,4% от числа всех наблюдений с несколькими хромосомными вариантами. Сочетание 4 хромосомных вариантов было обнаружено у 12 детей, что составило 5% от общего числа случаев сочетанных хромосомных вариантов. Число вариаций околоцентромерного

Таблица 1. Частота различных хромосомных вариантов и/или инверсий окологентромерного гетерохроматина и соотношение полов у детей с задержкой психомоторного и физического развития, множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития

Группа	Общее число детей	Количество индивидуумов с экстремальными вариантами и/или инверсиями гетерохроматина						
		в целом	варианты хромосом					
			Y	1	9	16	другие	сочетанные
В целом	3593	877 (24,4%)	51 (1,4%)	141 (3,9%)	299 (8,3%)	51 (1,4%)	96 (2,7%)	239 (6,7%)
Мальчики (м)	1962 (54,6%)	502 (25,6%)	51 (2,6%)	80 (4,1%)	159 (8,1%)	25 (1,3%)	57 (2,9%)	130 (6,6%)
Девочки (д)	1631 (45,4%)	375 (23,0%)	—	61 (3,7%)	140 (8,6%)	26 (1,6%)	39 (2,4%)	109 (6,7%)
Соотношение полов м:д	1,2	1,3	—	1,3	1,1	1,0	1,5	1,2

гетерохроматина в среднем на 1 ребенка с хромосомными вариантами равнялось 1,4.

Хромосомные аномалии в общей группе из 3593 обследованных детей были выявлены нами в 10% случаев. Нормальный кариотип без хромосомных вариантов обнаружен у 2357 (65,6%) пациентов. Результаты цитогенетического исследования детей в зависимости от пола и соотношение полов представлены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что не получено различий по соотношению полов в группах детей с нормальными кариотипами (без вариантов) и с вариантами, а также при сравнении с группой детей с хромосомными аномалиями. Это также свидетельствует в пользу того, что можно объединить полученные данные для мальчиков и для девочек.

При анализе вклада изменений гетерохроматиновых участков по отдельным хромосомам в общее число хромосомных вариантов (рис. 1) показано, что варианты хромосомы 9 обнаружены

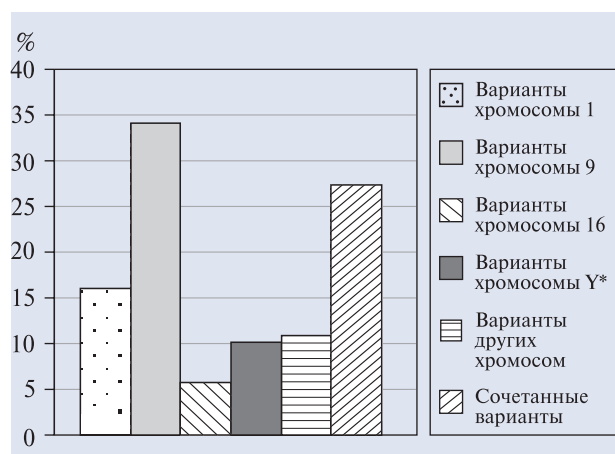


Рис. 1. Вклад изменений гетерохроматиновых участков по отдельным хромосомам в общее число хромосомных вариантов.

* Вклад изменений гетерохроматиновых участков по хромосоме Y рассчитан на общее число вариантов у мальчиков

Таблица 2. Результаты цитогенетического исследования детей с задержкой психомоторного развития, множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития в зависимости от пола

Кариотипы	Количество детей с задержкой психомоторного развития, множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития				Соотношение полов м:д
	мальчики (м)		девочки (д)		
	абс.	%	абс.	%	
Без вариантов хромосом	1258	64,1	1099	67,4	1,1
С вариантами хромосом	502	25,6	375	23	1,3
С аномалиями хромосом	202	10,3	157	9,6	1,3
Всего (3593)	1962	100	1631	100	1,2

в наибольшем числе случаев — 34,1%, варианты хромосомы 1 — в 16,1%, хромосомы 16 — в 5,8% и хромосомы Y — в 10,2%. Изменения гетерохроматина по остальным хромосомам, а именно хромосомам 13, 14, 15, 17, 21 и 22, обнаружены в 10,9% случаев.

При анализе вклада вариантов по отдельным хромосомам в общее их число отмечена высокая частота сочетания различных вариантов в кариотипе — 27,3%. Причем среди сочетанных вариантов тоже преобладали изменения в хромосоме 9 — в 189 случаях (79% от числа детей с сочетанными вариантами), хромосоме 1 — в 150 (62,8%) случаях, хромосоме 16 — в 42 (17,5%) случаях и хромосоме Y — в 32 случаях (24,6% от числа мальчиков с сочетанными вариантами). Суммируя вклады полиморфизма гетерохроматина отдельных хромосом с их же вкладом в сочетанные варианты, необходимо отметить следующее: варианты по хромосоме 9 встречались в наибольшем числе случаев — 488 (55,6%); варианты по хромосоме 1 — в 291 (33,2%) случае; по хромосоме 16 — в 93 (10,6%) случаях (все % от общего числа детей с вариантами) и по хромосоме Y — в 83 (16,5% от числа мальчиков с хромосомными вариантами) случаях. Полученные результаты, вероятно, свидетельствуют о различной генетической «ценности» гетерохроматиновых районов отдельных хромосом и их функциональном значении. По-видимому, определенные типы экстремальных вариантов хромосом в условиях специфического генного окружения могут оказывать влияние на формирование задержки психомоторного развития, множественных врожденных пороков и/или микроаномалий развития.

При анализе результатов обращает на себя внимание факт большой частоты встречаемости вариаций гетерохроматинового участка хромосомы Y (10,2% в случае изолированных вариантов и 16,5%

с учетом сочетанных вариантов) у обследованных мальчиков. Согласно данным одних исследователей, наличие варианта хромосомы Y не приводит к каким-либо аномалиям фенотипа [18], в то время как другие авторы высказывают предположение о неблагоприятном влиянии увеличенного блока гетерохроматина хромосомы Y [19]. Анализ полученных нами данных показал, что у всех мальчиков, помимо задержки психомоторного развития разной степени тяжести, встречались врожденные пороки и/или микроаномалии развития. Причем нарушение полового развития и/или аномалии половых органов встречались у $\frac{1}{3}$ из них. Среди врожденных пороков наиболее характерными оказались микроцефалия, врожденные пороки сердца, патология органов зрения, а среди микроаномалий развития — оттопыренные диспластичные ушные раковины, низкий рост волос на лбу, шалевидная мошонка. Обсуждая эти результаты, по всей видимости, нельзя делать вывод о том, что экстремальные варианты хромосомы Y не оказывают влияния на формирование наблюдаемых клинических проявлений, и необходимо учитывать эти варианты при цитогенетических исследованиях.

Результаты сравнительного изучения частоты хромосомных вариантов в группах обследованных детей с аномалиями хромосом и без хромосомной патологии представлены в табл. 3. Анализ показал, что в группе детей с хромосомными аномалиями частота изменений гетерохроматина составляет 24,2%, что значительно не отличается от частоты хромосомных вариантов в группе детей без хромосомной патологии — 27,1% ($p > 0,05$). У детей как с хромосомными аномалиями, так и без хромосомной патологии наиболее часто встречались варианты околоцентромерного гетерохроматина хромосомы 9.

Молекулярно-цитогенетическое исследование наиболее часто встречающихся вариантов хромо-

Таблица 3. Частота хромосомных вариантов у детей с задержкой психомоторного развития, множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями при аномалиях хромосом и без хромосомной патологии

Варианты по отдельным хромосомам в кариотипе	Дети с задержкой психомоторного развития, множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития (n=3593)	
	с отсутствием хромосомных аномалий, n=3234 (90,0%)	с хромосомными аномалиями, n=359 (10,0%)
Всего	877 (27,1%)	87 (24,2%)
Хромосома 1	141 (4,4%)	11 (3,1%)
Хромосома 9	299 (9,3%)	32 (8,9%)
Хромосома 16	51 (1,6%)	7 (1,9%)
Сочетанные варианты	239 (7,4%)	31 (8,6%)

сом с помощью количественной FISH и оригинальных хромосомоспецифичных околоцентромерных ДНК зондов на альфоидную и классическую сателлитную ДНК, формирующую эти районы, полностью подтвердило данные цитогенетического анализа, а также способствовало оценке числа копий ДНК в участках с увеличенными гетерохроматиновыми блоками. Следует отметить, что цитогенетический анализ является косвенным методом для определения вариации числа копий ДНК при хромосомных вариантах, поскольку при использовании С-метода производится окрашивание гетерохроматиновых комплексов ДНК-белок. Количественная FISH с применением ДНК проб, специфически маркирующих вариабельные участки гетерохроматина хромосом, позволяет оценить непосредственно содержание ДНК в данном хромосомном участке и считается прямым методом исследования [14, 15]. На рис. 2 представлен пример анализа перичентрической инверсии хромосомы 9 в сочетании с увеличением гетерохроматинного участка методом количественной FISH.

На рис. 2 видно, что при измерении интенсивности двух гибридизационных сигналов пик интенсивности одного одиночного сигнала равнялся 1470, а другого — 4310. Соотношение интенсивности двух сигналов свидетельствует о трехкратном различии в содержании ДНК гетерохроматиновых участков гомологичных хромосом 9 или о хромосомном варианте 9phqh⁺. С помощью данного метода было выявлено следующее: неспецифические изменения в гетерохроматиновых районах, содер-

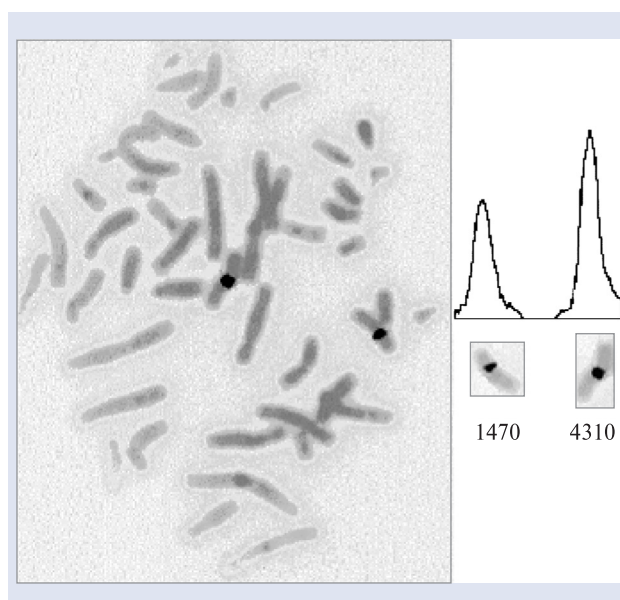


Рис. 2. Анализ перичентрической инверсии хромосомы 9 в сочетании с увеличением гетерохроматинного участка методом количественной FISH.

жащих высокоповторяющиеся последовательности ДНК; независимое варьирование различных типов ДНК в увеличенных гетерохроматиновых районах; увеличение числа копий «классической» сателлитной ДНК в тех же районах. Следовательно, в проведенном нами исследовании достоверно продемонстрирована связь вариации гетерохроматиновых районов отдельных хромосом с различиями числа копий определенного типа ДНК — «классической» сателлитной ДНК.

Изучение природы и биологической значимости полиморфизма гетерохроматиновых районов хромосом до сегодняшнего времени остается одной из наиболее сложных проблем в медицинской цитогенетике. До сих пор нет единого взгляда на роль вариантов околоцентромерного гетерохроматина в развитии той или иной патологии. Считается, что данные участки хромосом не содержат активных генов. Тем не менее определенные типы экстремальных вариантов хромосом и инверсии околоцентромерного гетерохроматина, по-видимому, при соответствующих обстоятельствах могут оказывать влияние на нарушение функциональной активности генов, находящихся от них в непосредственной близости, — так называемый эффект положения генов [20, 21]. Кроме того, инверсии околоцентромерного гетерохроматина, вероятно, могут нарушать и сами последовательности ДНК отдельных генов, расположенных на границе с инвертированным участком.

Высокая частота (до 50%) экстремальных вариаций в гетерохроматиновых районах хромосом обнаруживается при таких патологических состояниях, как наследственные синдромы нехромосомного генеза, нарушение репродуктивной функции, различные онкологические состояния [3, 22–25]. Носители вариантов хромосом 1 и 9 чаще встречаются среди пациентов с врожденными пороками развития [26]. Среди детей с задержкой психомоторного и физического развития, множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития носители экстремальных вариантов гетерохроматиновых районов встречаются с частотой 16–20% [2–4], тогда как в нормальной популяции, по данным литературы, подобные изменения хромосом наблюдаются с частотой 4–6% [16, 17].

В нашей работе частота хромосомных вариантов и инверсий околоцентромерного гетерохроматина у обследованных детей составила 24,4%, что в 4 раза выше, чем в нормальной популяции, и сравнима с частотой (до 20%) в других исследованиях. При анализе вклада изменений гетерохроматина отдельных хромосом в общее число хромосомных вариантов показано, что варианты по хромосоме 9 обнаружены в наибольшем числе случаев (34,1 или

55,6% с учетом сочетанных). Это может с определенной долей вероятности свидетельствовать о том, что гены, расположенные в непосредственной близости с гетерохроматиновым районом хромосомы 9, играют определенную роль в возникновении отдельных форм умственной отсталости, сочетающейся с множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития. Наши данные и предположения согласуются также с мнением других ученых [27], в исследовании которых частота вариантов по хромосоме 9 среди 56 детей с подобной патологией и вариациями околоцентромерного гетерохроматина составила 33%. При сравнении клинических особенностей пациентов со сходными клинико-фенотипическими характеристиками и вариантами хромосомы 9 с контрольной группой при нормальном кариотипе (46,XX и 46,XY) достоверными оказались различия частот встречаемости аномалий лица и черепа ($p < 0,01$), нервной системы, опорно-двигательного аппарата, половой системы ($p < 0,025$) [27]. При этом аномалии нервной системы встречались в 5,9 раз чаще, чем в контрольной группе. Следует отметить, что в нашем исследовании обнаружена высокая частота (27,3%) случаев сочетания изменений в гетерохроматиновых районах различных хромосом.

Определение геномных изменений на хромосомном уровне в виде экстремальной вариабельности отдельных гетерохроматиновых районов хромосом и инверсий околоцентромерного гетерохроматина, по-видимому, может быть значимо для идентификации генетических маркеров недифференцированных форм умственной отсталости с множественными врожденными пороками развития и/или микроаномалиями.

В заключение, после обследования 3593 детей с задержкой психомоторного развития, МВПР

и/или МАР можно сделать следующие предварительные выводы.

ВЫВОДЫ

1. Вариации в гетерохроматиновых районах хромосом у детей с задержкой психомоторного развития, множественными врожденными пороками развития и/или микроаномалиями выявлены в 24,4% случаев, что отличается от их частоты в нормальной популяции (4—6%) и, следовательно, является характерным для данных форм патологии. По-видимому, эти дети составляют группу риска по множественным врожденным порокам развития в сочетании с умственной отсталостью.
2. При анализе вклада изменений гетерохроматина по отдельным хромосомам в общее число хромосомных вариантов показано, что варианты по хромосоме 9 обнаружены в наибольшем числе случаев.
3. Всего в процессе исследования выявлены 36 различных вариантов изменений гетерохроматиновых районов по 10 хромосомам 5 различных групп (А, С, D, Е и G группы), а именно, по хромосомам 1, 9, 13—17, 21, 22 и Y.
4. Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования являются адекватными для выявления возможных генетических причин задержки психомоторного развития, сочетающейся с множественными врожденными пороками и микроаномалиями развития.
5. Определение геномных изменений на хромосомном уровне, по-видимому, значимо для идентификации генетических маркеров недифференцированных форм умственной отсталости с множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kanata S. A cytogenetic study of heavy mental retardates. A study on heavy mental retardates with behavior disorders. Hiroshima Med Sci 1986; 35: 3: 253—270.
2. Вельтищев Ю.Е., Ворсанова С.Г., Демидова И.А. и др. Цитогенетическая диагностика недифференцированных форм умственной отсталости у детей с врожденными пороками развития и/или микроаномалиями. Вопросы охраны материнства и детства 1989; 34: 11: 22—26.
3. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Соловьев И.В. и др. Современные достижения молекулярной цитогенетики в диагностике хромосомной патологии. Рос вестн перинатол и педиат 1998; 43: 1: 31—36.
4. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Молекулярно-цитогенетическая пре- и постнатальная диагностика хромосомной патологии. Вестник РАМН 1999; 11: 12—15.
5. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышев В.Н. Медицинская цитогенетика. М: Медпрактика-М 2006; 300.
6. Демидова И.А., Ворсанова С.Г. Цитологический и молекулярный полиморфизм хромосом человека. Медицинская генетика (Экспериментальная информация) 1990; 12: 1—8.
7. Юров Ю.Б., Ворсанова С.Г. Молекулярно-цитогенетические исследования хромосомных аномалий и нарушений при нервно-психических заболеваниях: поиск биологических маркеров для диагностики. Вестн РАМН 2001; 7: 126.
8. Hassold T., Quillen S.D., Yamane J.A. Sex ratio in spontaneous abortions. Ann Human Genet 1983; 47: 1: 39—47.
9. Hungerford D.A. Leukocytes cultured from small inocula of the blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment of the hypotonic KCl. Stain Techn 1965; 40: 333—338.
10. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosome. Lancet 1972; 11: 971—972.
11. Sumner A.T. A simple technique for demonstrating centromeres.

- meric heterochromatin. *Exp. Cell Res* 1972; 75: 304—306.
12. Система учета размеров гетерохроматиновых участков 1, 9, 16 и Y. В сб.: Полиморфизм хромосом у человека. Под ред. А.А. Прокофьевой-Бельговской 1981; 245—246.
13. Soloviev I.V., Yurov Yu.B., Vorsanova S.G., Malet P. Microwaves activation of fluorescence in situ hybridization: a novel method or rapid chromosome detection and analysis. *Focus* 1994; 16: 4: 115—116.
14. Yurov Y.B., Soloviev I.V., Vorsanova S.G. et al. High resolution fluorescence in situ hybridization using cyanine and fluorescein dyes ultra-rapid chromosome detection by directly fluorescently labeled alphoid DNA probes. *Human Genet* 1996; 97: 390—398.
15. Iourov I.Y., Soloviev I.V., Vorsanova S.G. et al. An approach for quantitative assessment of fluorescence in situ hybridization (FISH) signal for applied human molecular cytogenetics. *J Histochemistry Cytochemistry* 2005; 53: 3: 401—408.
16. Hsu L., Benn O., Tannenbaum H. et al. Chromosomal polymorphisms of 1, 9, 16 and Y in major ethnic groups. A large prenatal study. *Am J Med Genet* 1987; 26: 95—101.
17. Bhasin M.K. Human population cytogenetics: a review. *Int J Hum Genet* 2005; 5: 2: 83—152.
18. Buhler E.M. A synopsis of the human Y-chromosome. *Human Genet* 1980; 55: 2: 145—175.
19. Westlake J.R., Robertson R., Leddet I. et al. Y chromosome length related of fetal loss. *Clin Genet* 1983; 24: 6: 413—419.
20. Прокофьева-Бельговская А.А. Гетерохроматические районы хромосом. М: Наука 1986; 430.
21. Подугольникова О.А., Солониченко В.Г. Цитогенетическое исследование функций варибельных районов С-гетерохроматина у человека. Влияние С-гетерохроматина на экспрессию генов. *Цитология* 1994; 36: 11: 1035—1040.
22. Демидова И.А., Ворсанова С.Г., Колотий А.Д. и др. Цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое обследование детей с синдромом Картагенера: изучение С-гетерохроматина отдельных хромосом. *Рос вестн перинатол и педиат* 1999; 4: 35—39.
23. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Демидова И.А. и др. Вариации гетерохроматиновых районов хромосом и хромосомные аномалии у детей с аутизмом: идентификация генетических маркеров аутистических расстройств. *Журн невропатол и психиат* 2006; 6: 52—57.
24. Ворсанова С.Г., Берешева А.К., Казанцева Л.З. и др. Молекулярно-цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий у супружеских пар с нарушением репродуктивной функции. *Пробл репрод* 1998; 4: 4: 41—46.
25. Oliver-Bonet M., Navarro J., Garcia-Peiro A. et al. Asynapsis and abnormal recombination in an infertile man carrier of a 9qh+++ polymorphism. *Chromosome Research* 2007; 15: 1: 150.
26. Gardner R.J.M., McCreanor H.K., Parslow M.J., Veale A.M.O. The 1qh+chromosomes harmless? *Clin Genet* 1974; 6: 383—393.
27. Гречанина Е.Я., Рубинская Н.В., Христич А.В. и др. Фенотипические и клинические особенности пациентов с полиморфизмом хромосом. Российский конгресс «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии», 3-й. М: Медпрактика-М 2004; 92.

Поступила 20.08.08