



**Кафедра патологии**

**Тема 2.**

**ПОЛОВОЙ ХРОМАТИН**

**И КЛИНИКО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ  
ЗНАЧЕНИЕ ЕГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ.**

**РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ ПЕРЕДАЧИ  
ПАТОЛОГИЧЕСКИХ НАСЛЕДСТВЕННЫХ  
ПРИЗНАКОВ.**

## ***Цель занятия:***

выявление полового хроматина

\* в ядрах соматических клеток человека:

- слизистой буккального эпителия;

- нейтрофилов крови;

\* решение генетических задач;

\* скрининг-тесты для генных наследственных обменных болезней человека.

**Головои хроматин** (тельце Барра) —

материал генетически инактивированной X-хромосомы,

в норме выявляемый только в

**соматических** (диплоидных) клетках женщин с кариотипом **46XX**.

**В гранулоцитах** половой хроматин выглядит как «барабанная палочка».

*Число X-хромосом у индивида равно числу телец полового хроматина плюс один.*

**В** клетках различных тканей (в различных популяциях) половой хроматин выявляется с неодинаковой частотой: **80—90 %** нервных клеток содержат половой хроматин, тогда как в клетках буккального эпителия половой хроматин обнаруживается со средней частотой **20—40 %**.

**П**оловой хроматин локализуется в ядре, чаще всего прилегая к ядерной оболочке, с которой он связан тонкими нитями.

Реже он располагается около ядрышка или в середине ядра.

***Е**сли половой хроматин прилегает изнутри к ядерной оболочке, он имеет форму треугольника, с вершиной, направленной в сторону центра ядра, или имеет полусферическую форму.*

**В**се организмы, в кариотипе которых имеются *две X-хромосомы*, содержат ***одно тельце полового хроматина***.  
**П**ри трисомии по X-хромосоме в ядрах клеток содержится по два тельца полового хроматина.

**С**уществует обратная зависимость между пролиферативной активностью клеточной популяции и частотой встречаемости ***тельца полового хроматина***.

**О**бъекты исследования X-хроматина  
— клетки буккального эпителия,  
эпителиальные клетки мочевого  
осадка, нейтрофилы крови и др.

**В** онтогенезе половой хроматин  
появляется рано, до того, как у  
эмбриона закладываются гонады.

Изучение полового хроматина используется для **в**ерификации хромосомного пола **(1)**,

**д**иагностики хромосомных aberrаций по половым хромосомам **(2)**,

для **о**риентировочного прогноза пролиферативной активности опухолей **(3)**.



На 5—6-й день эмбрионального развития сначала в клетках трофобластодермы, затем — в других частях зародыша осуществляется **инактивация одной из каждых двух гомологичных хромосом**, *включая и одну из двух X-хромосом у зародышей женского пола.*

**М**еханизм этого явления связан с метилированием ДНК инактивируемой хромосомы.

Специальный участок **Xq27.3** на X-хромосоме («**островок CpG**») содержит множественные цитозин-гуаниновые повторы, которые в геноме эукариот могут метилироваться. Так, они полностью метилированы в тельце Барра и **не метилированы (активны)** в единственной мужской X-хромосоме, как и в активной женской.

**У** человека развитие мужского пола предопределено наличием **Y**-хромосомы.

**В** присутствии любого количества **X**-хромосом одной **Y**-хромосомы достаточно для формирования организма по мужскому типу.

Ген **SRY**, находящийся в **Y**-хромосоме, срабатывает на **6—7**-й неделе эмбриогенеза, запуская в действие ряд генов, локализованных в других хромосомах и обеспечивающих программу **синтеза тестостерона**.

**Фетальный тестостерон направляет развитие зародыша по мужскому типу.**

**↑ продукция тестостерона и  
антимюллерова  
ингибирующего пептида в  
гонадах плода  
предопределяет  
(2—3-й месяц эмбриогенеза)  
*формирование внутренних  
половых органов по мужскому  
типу.***

**М**етаболит андрогенов  
(**5-альфа-дигидротестостерон**),  
*не конвертируемый в эстрогены,*  
контролирует маскулинный тип  
формирования наружных гениталий на **3—4-м**  
**месяце фетогенеза (соматический пол).**

Часть тестостерона плода метаболизирует в  
эстрогены.

*При наличии Y-хромосомы и высокой  
продукции тестостерона*  
обеспечивается высокое содержание  
метаболитов эстрогенов,  
подавляющих формирование обратной  
связи между продукцией  
*лютеинизирующего гормона (ЛГ) и  
эстрогенов* в развивающемся мозге.

**Э**то ведет к установлению **мужского нециклического типа гипоталамо-гипофизарной регуляции половых функций**

и обеспечивает на **4—6-м месяце фетогенеза**

**мужской тип дифференцировки головного мозга,**

что лежит в основе нейропсихической маскулинизации в последующей жизни.



Созревание центров секреции гонадотропинов идет под контролем **эстрогенов**, полученных из **тестостерона**, а центров, определяющих половое влечение, — под совместным контролем **андрогенов и их ароматических эстрогенных производных**.

*Центры, ответственные за поддержание поведения, соответствующего избранной половой роли, у мужчин организуются под влиянием **только андрогенов**.*

если кариотип **46XX**, а не **45X0**

(синдром Шерешевского —

Тернера),

описанные события не

происходят,

и

**формируется**

**соматический и психический**

**П**од наследственными понимают  
заболевания с  
*первичными техническими*  
*дефектами в программном*  
*аппарате клеток, передаваемые*  
по наследству через гаметы.

*Моногенные* наследственные заболевания контролируются одним геном и поэтому наследуются в соответствии с законами Менделя (например, гемофилия А).

*Полигенные* наследственные болезни контролируются суммарным эффектом **нескольких генов**, расположенных в разных частях генома и имеющих неодинаковые свойства.

*Полигенные наследственные*  
болезни наследуются по  
**аддитивно-полигенному типу,**  
как правило, с пороговым  
эффектом  
по воздействию того или иного  
лимитирующего фактора  
внешней среды (например,  
сахарный диабет)

**В**ажно помнить, что мутации, хотя и лежат в основе патогенеза наследственных болезней, но не тождественны самому понятию «наследственная болезнь».

Для возникновения наследственных болезней - как и для возникновения других заболеваний - необходимо действие **причинных факторов** и существенно влияние **условий** и **реактивности** организма.

## **Работа 1.**

**Определение полового хроматина в соскобе со слизистой полости рта**

**П**еред взятием соскоба со слизистой щеки несколько раз зубами сжать слизистую, затем проглотить слюну и шпателем сделать соскоб с данного места слизистой щеки.

Полученный материал перенести на предметное стекло и размазать по стеклу.



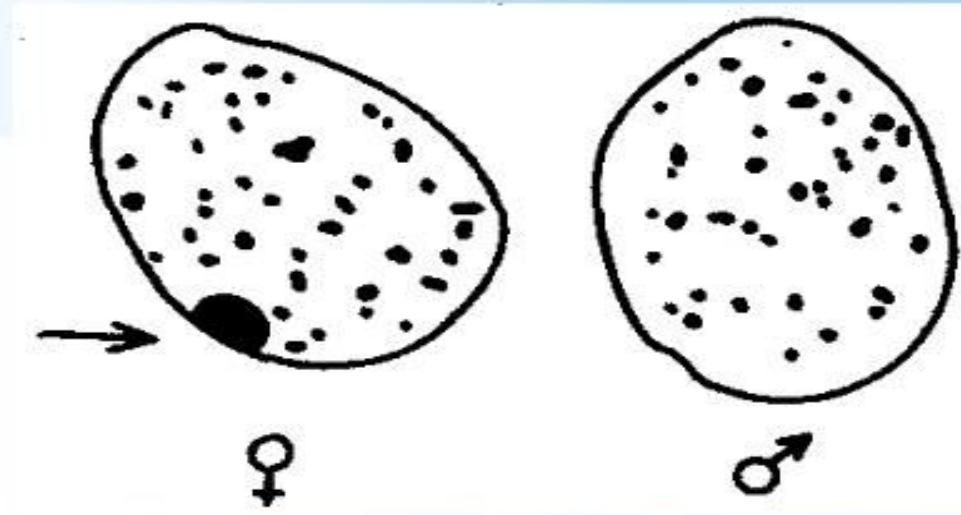
**Н**е давая материалу подсохнуть, наносят на мазок 1—2 капли 1 % уксуснокислого орсеина.

При отсутствии орсеина окраску можно производить 0,2—0,5 % раствором толуидиновой (или метиленовой) синьки или азура 1, имеющими рН 4,5—4,7.

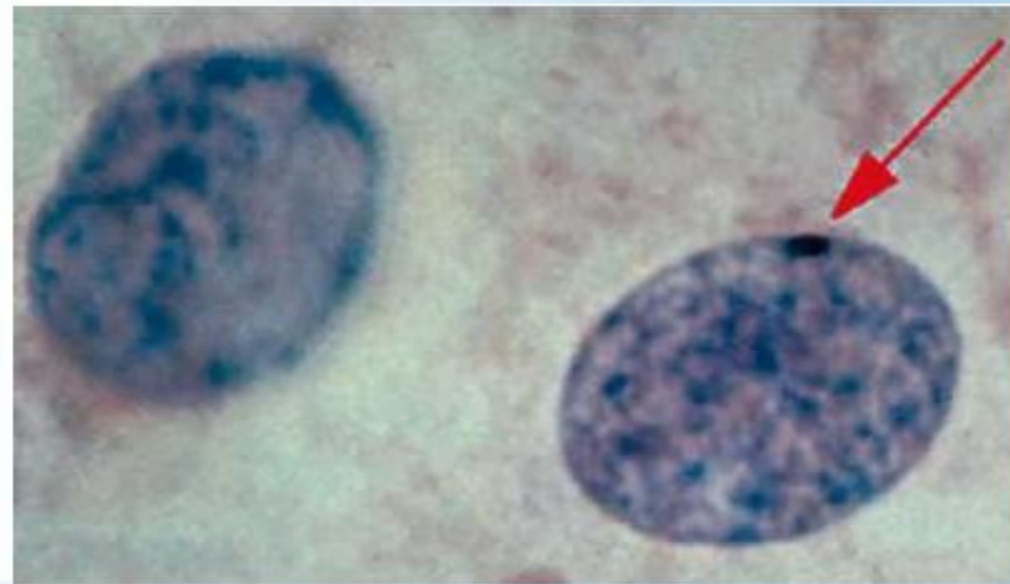
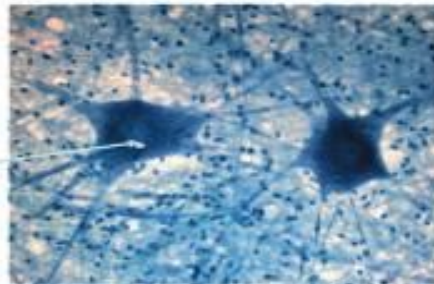
Через 1—2 мин на мазок накладывается покровное стекло, а поверх него — кусочек фильтровальной бумаги, сложенной в 4 раза. Большим пальцем прижимают фильтровальную бумагу и покровное стекло к предметному стеклу. Таким образом достигается равномерное распределения клеток эпителия в один слой.

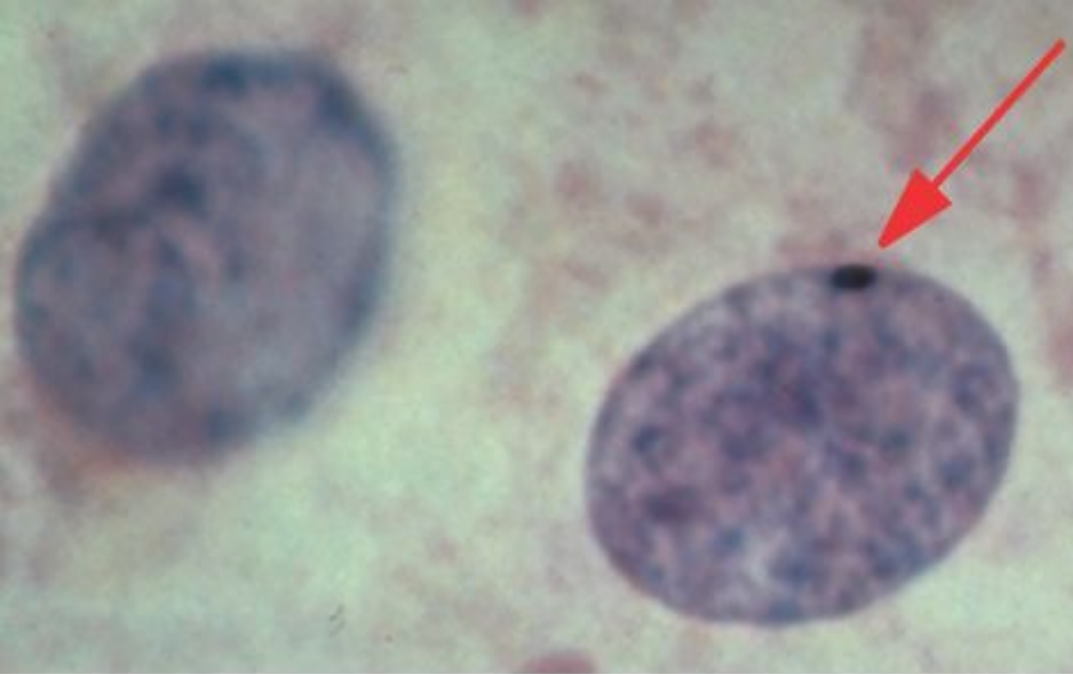
# Половой хроматин

Половой хроматин, или **тельце Барра** -инактивированная X-хромосома.



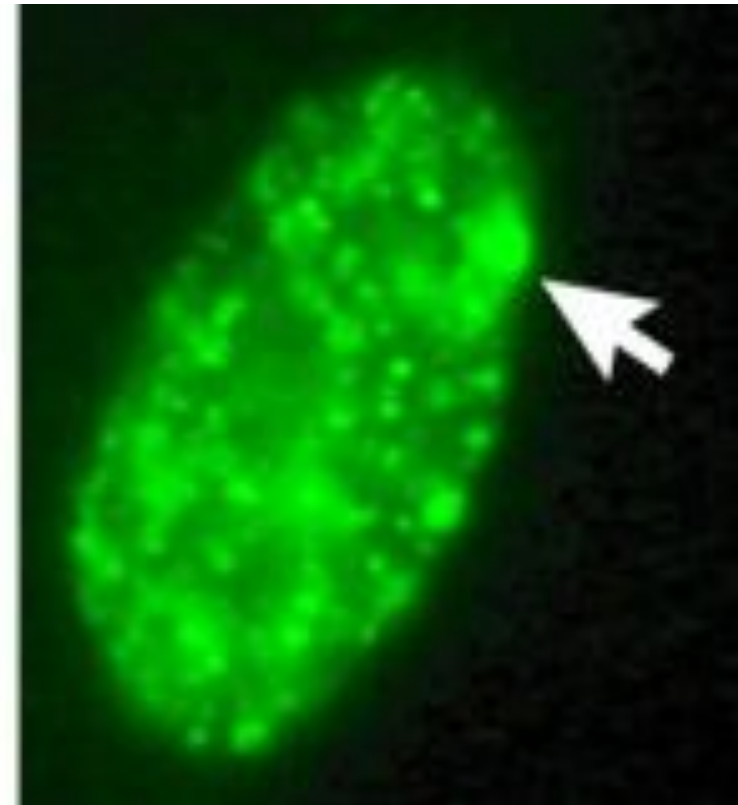
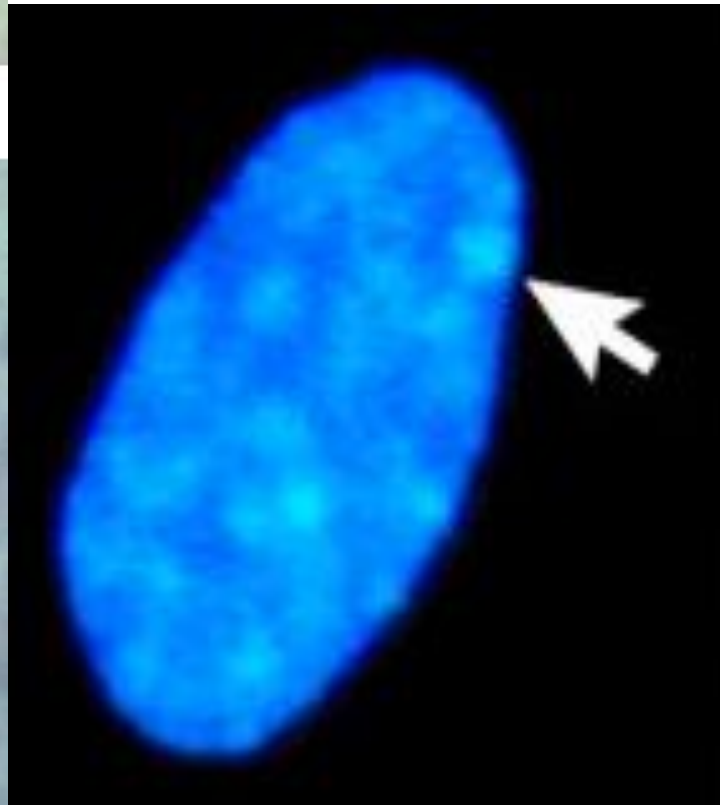
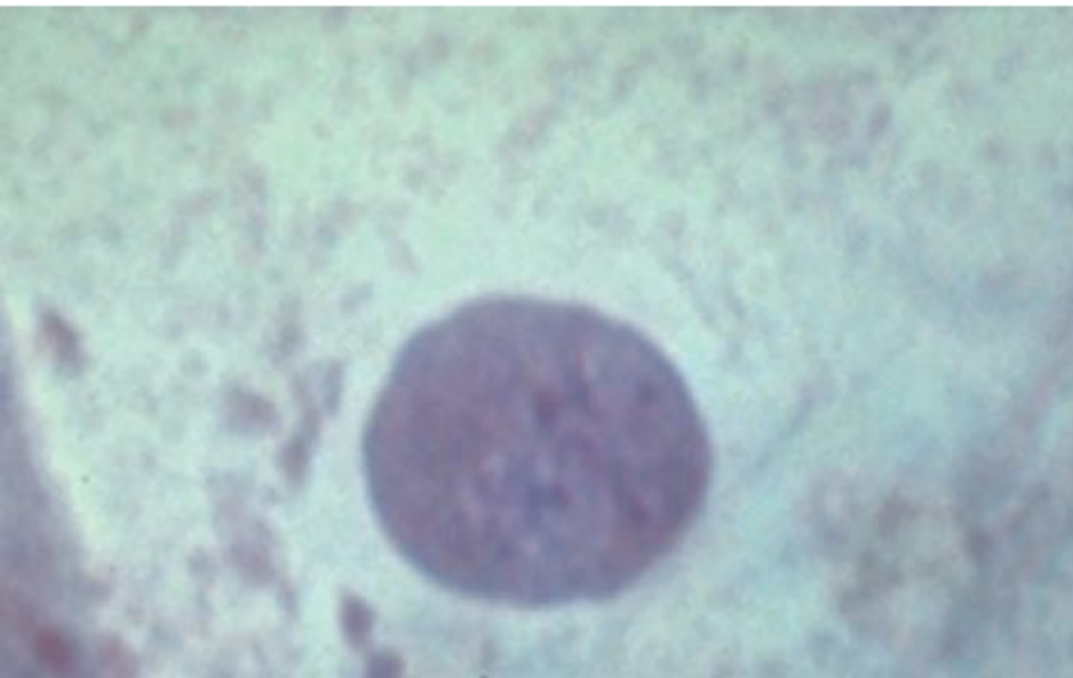
Канадский ученый Барр (1908 – 1995) и его студент Бертрам открыли в 1948 году в ядрах нервных клеток кошек структуру, названную **тельце Барра**, или X-половой хроматин





**Слева:** клетки буккального эпителия. Красная стрелка указывает на глыбку полового хроматина (тельце Барра).

**Справа:** Ядро [фибробласта](#) женщины, окрашенное флуоресцентным красителем. Стрелками указано тельце Барра



## **Работа 2. Нахождение X-хроматина в нейтрофилах крови человека**

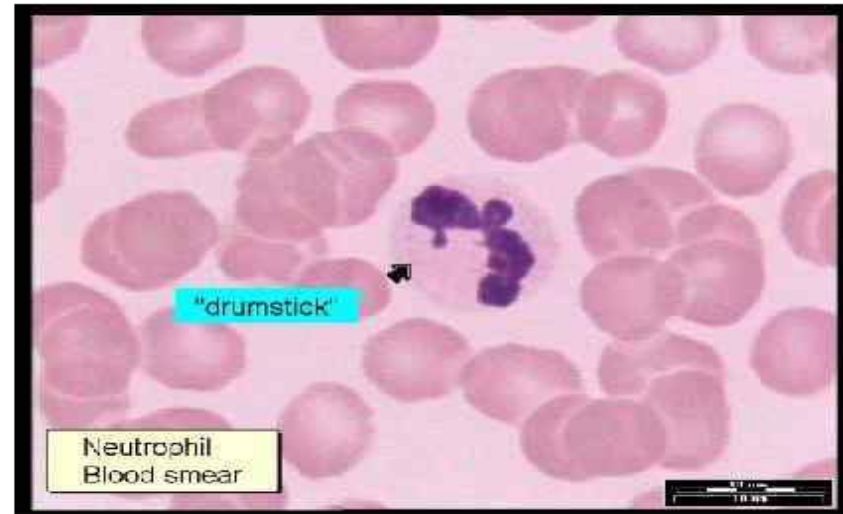
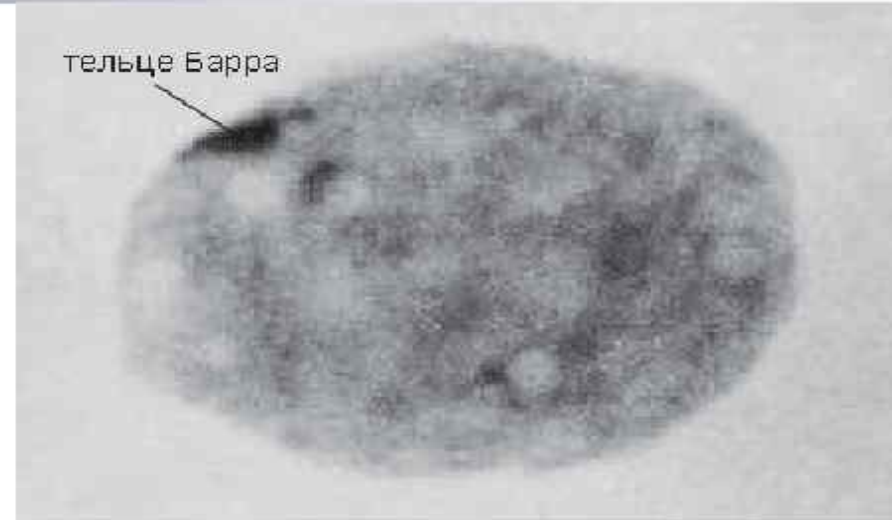
Окрашенный мазок крови просматривают под иммерсионным увеличением, внимательно изучают сегментоядерные нейтрофилы и отыскивают 100 нейтрофилов, отмечая количество клеток, содержащих X-хроматин — «барабанные палочки».

В протоколе:

- а) нарисовать нейтрофилы, содержащие X-хроматин («барабанные палочки»);
- б) подсчитать частоту встречаемости нейтрофилов, содержащих «барабанные палочки».

# Половой хроматин

- Половой хроматин (тельце Барра) – скопление гетерохроматина, соответствующее одной из пары X-хромосом, которая в интерфазе плотно скручена и неактивна.
- Выявление полового хроматина используется как диагностический тест для определения генетического женского пола, что существенно при изучении генетических аномалий и, особенно, в спортивной медицине.
- Обычно анализируют эпителиальные клетки слизистой оболочки полости рта, где, как и в большинстве других клеток, половой хроматин выявляется как крупная глыбка гетерохроматина, лежащая рядом с ядерной оболочкой.
- В нейтрофильных лейкоцитах крови половой хроматин имеет вид маленькой добавочной дольки ядра («барабанной палочки»).





## 1. Получение клеточного материала.

Источник – разнообразные ткани, но предпочтительны те, что не нужно культивировать in vitro.

Для определения X-хроматина у **взрослого** человека используют чаще всего мазки со слизистой оболочки щеки, реже слизистой оболочки влагалища, а также клетки волосяных фолликулов.

**Перинатальная диагностика** проходит с использованием амниотических клеток.

Для определения численности Y-хроматина используется перечисленные ткани, а также сперматозоиды и культивируемые лимфоциты.

В целом для анализа X-хроматина и Y-хроматина идеально подходят однослойные культуры клеток, обычно



2. Фиксация препаратов раствором метанола или смесью *этанолола и уксусной кислоты* (3:1)

или исключительно *этанололом*.

3. Дегидратация путем переноса (ТОЛЬКО для анализа телец Барра) препарата из одного раствора в другой с выдержкой в каждом в течение 5 минут: в спирте 70°, в спирте 50°, в дистиллированной воде I, в дистиллированной воде II.

4. Гидролиз (ТОЛЬКО для анализа телец Барра) в HCl (необязательно)

## 5. Окрашивание полового хроматина.

Методы окраски X- и Y-хроматина различны. X - хроматин окрашивается препаратами на основе *нефлюоресцирующих красителей*: основной фуксин, тионин, ацетоорсеин, толуидиновый синий и др. Y – хроматин окрашивается *флюорохромами* — производными акридинового оранжевого: акрихином, акрихин-ипритом, акрихин-пропиллом.

Препараты выдерживаются в красителе от 30 минут до 12 часов.

Препараты X-хроматина высушивают и изучают с масляной иммерсией в проходящем свете.

Препараты Y-хроматина заключают в специальный буферный р-р и изучают в ультрафиолетовом свете с помощью люминесцентного микроскопа.

Анализ проводят на разъединенных, распластанных клетках.

Срезы тканей для определения полового хроматина используют лишь тогда, когда невозможно получить мазки или препараты-отпечатки среза органа.

# **Работа 3. Скрининг-тесты наследственных обменных болезней человека**

## **А. Определение фенилаланина в моче человека (проба И. А. Феллинга)**

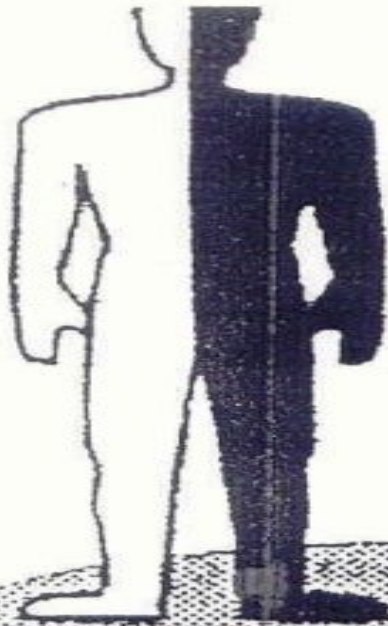
К пробе мочи (2 мл) добавить 6 капель 10 % раствора хлорного железа.

Появление сине-зеленого окрашивания мочи указывает на положительный результат пробы (реакция положительна при содержании фенилаланина в моче более 15 мг %).

**Фенилкетонурия (ФКУ)** – это нарушение метаболизма аминокислот, приводящее к возникновению клинического синдрома умственной отсталости с когнитивными и поведенческими расстройствами, вызванными **повышенным уровнем фенилаланина**.

Наследуется аутосомно-рецессивно.

Отец  
носитель



Мать  
носитель



Ребенок  
без гена ФКУ



Ребенок  
носитель



Ребенок  
носитель



Ребенок  
больной ФКУ

**Ф**енилаланин – незаменимая

аминокислота, строительный блок белков.

При **фенилкетонурии** (наследственная ферментопатия, дефект гена **PAH** ([12q23.2](#); ген

**фенилаланин**гидроксилазы)

нарушено нормальное превращение фенилаланина в тирозин как результат недостатка

**ф**енил**а**ланин**Г**идроксилазы

(A.Folling, 1934, 98%),

фенилаланин накапливается в крови и превращается в фенилпировиноградную кислоту = нейротропный яд.

➤ судорожный синдром, олигофрения

(**фенилпировиноградная олигофрения**).

**При своевременной** диагностике можно полностью избежать патологических изменений, если с рождения и до полового созревания ограничить поступление в организм фенилаланина с пищей.

**Позднее начало лечения** хотя и даёт определённый эффект, но не устраняет развившихся ранее необратимых изменений ткани мозга.

При рождении ребёнка в роддомах на 3—4 сутки берут анализ крови и проводят неонатальный скрининг для обнаружения врождённых заболеваний обмена веществ.

На этом этапе возможно обнаружение фенилкетонурии и возможно раннее начало лечения для предотвращения необратимых последствий.



**В. Определение гомогентизиновой кислоты** в моче человека (проба А. Гаррода)

К 0,5 мл мочи больного алкаптонурией  
добавить

5 мл 5 % раствора азотнокислого серебра и  
несколько капель 10 % раствора аммиака.

Появление черного окрашивания указывает  
на положительный результат пробы  
(наличие в моче гомогентизиновой  
кислоты).

**Алкапто́нурия** — наследственное заболевание, обусловленное выпадением функций оксидазы гомогентизиновой кислоты и характеризующееся расстройством обмена тирозина и экскрецией с мочой большого количества гомогентизиновой кислоты.

На примере алкаптонурии сэр Арчибальд Эдвард Гаррод в 1909 году разработал концепцию метаболического блока.

**К**онцепция метаболического  
блока de facto основана на  
принципе

**«один ген - один фермент -  
один признак (симптом)»**  
(принцип Бидла - Тейтама).

Согласно концепции метаболического блока, при наследственном заболевании имеется **дефицит белка-фермента**.

Это ведет к нарушению определенной биохимической реакции.

Создается *избыток вовлеченного в эту реакцию субстрата*.

Часть его может выделяться из организма или откладываться в тканях (*«болезни накопления» или тезауризмозы*).

**И**збыток субстрата может вовлекаться в альтернативные превращения, давая такие продукты, которые отсутствуют или имеются лишь в виде следов в норме.

Помимо избытка субстрата и действия альтернативных продуктов (которые могут быть токсическими), часть симптомов наследственных болезней порождается нехваткой конечных продуктов блокированной реакции и подавлением реакций, следующих в цепи превращений за блокированным этапом.

**П**омимо избытка субстрата и действия альтернативных продуктов (которые могут быть токсическими), часть симптомов наследственных болезней порождается *нехваткой конечных продуктов блокированной реакции и подавлением реакций, следующих в цепи превращений за блокированным этапом.*

Современная трактовка принципа Бидла-Тейтама и положений Гарода о метаболическом блоке сильно изменилась по сравнению с оригинальной, поскольку появилось много новых данных, не укладывающихся в классическую схему:

**1.** Не все гены кодируют белки.

Некоторые из них кодируют транспортные и рибосомальные РНК.

2. Не все белки, кодируемые генами - ферменты.

Множество наследственных болезней не связано с дефектом какого бы то ни было фермента, так как при них поражаются гены, кодирующие *неэнзиматические белки*.



3. Один белок кодируется чаще всего не одним геном, а несколькими, причем каждый ответственен за структуру одного полипептида в составе белка.

4. Гены в генотипах взаимодействуют, и, в силу этого, существует явление *плейотропии* - множественного действия гена.

**Алкаптонурия** возникает вследствие мутации **гена**, кодирующего синтез **оксидазы гомогентезиновой кислоты**.

Данная патология характеризуется **аутосомно-рецессивным** типом наследования.

Алкаптонурией чаще болеют мужчины. Ген **оксидазы** гомогентезиновой кислоты человека (**HGD**) локализован на длинном плече

**3** хромосомы человека (**3q 21-23**).

**В** нормальных условиях  
**гомогентизиновая кислота** —  
промежуточный продукт распада  
**тирозина** и **фенилаланина** —  
переводится в **малеилацетоуксусную**  
**кислоту,**  
из которой в конечном счёте образуются  
фумаровая и ацетоуксусная кислоты,  
вступающие в другие биохимические  
циклы.

**Из-за** дефекта фермента этот процесс тормозится, и **остающаяся в избытке**

**ГОМОГЕНТИЗИНОВАЯ КИСЛОТА**

превращается

*полифенолоксидазой* в

**ХИНОНОВЫЙ ПОЛИФЕНОЛ (АЛКАПТОН**  
**ИЛИ БЕНЗОХИНОНАЦЕТАТ),** который

**И ВЫВОДИТСЯ ПОЧКАМИ**

**Алкаптон** - если он не полностью экскретируется с мочой - откладывается в хрящевой и другой соединительной ткани, обуславливая их потемнение и повышенную хрупкость.

Чаще всего первой появляется пигментация склер и ушных хрящей.

Радикального лечения нет, используется *симптоматическая терапия и большие дозы аскорбиновой кислоты.*

Пробу мочи больного гепатоцеребральной дистрофией (болезнь Вильсона — Коновалова) наносят на фильтровальную бумагу и высушивают.

На высушенную пробу мочи наносят каплю реактива (*непосредственно перед постановкой реакции*

*растворить в 5 мл ацетона 0,1 г ортотолуидина и 0,5 г роданистого аммония*).

Появление в течение 30 сек синего окрашивания указывает на положительный результат (экскреция меди повышена).

**Болезнь Вильсона — Коновалова**  
(Гепатоцеребральная  
дистрофия, гепатолентикулярная  
дегенерация, болезнь Вестфала —  
Вильсона) —

*наследственное нарушение метаболизма  
меди, приводящее к тяжелейшим  
поражениям центральной нервной системы  
и внутренних органов.*

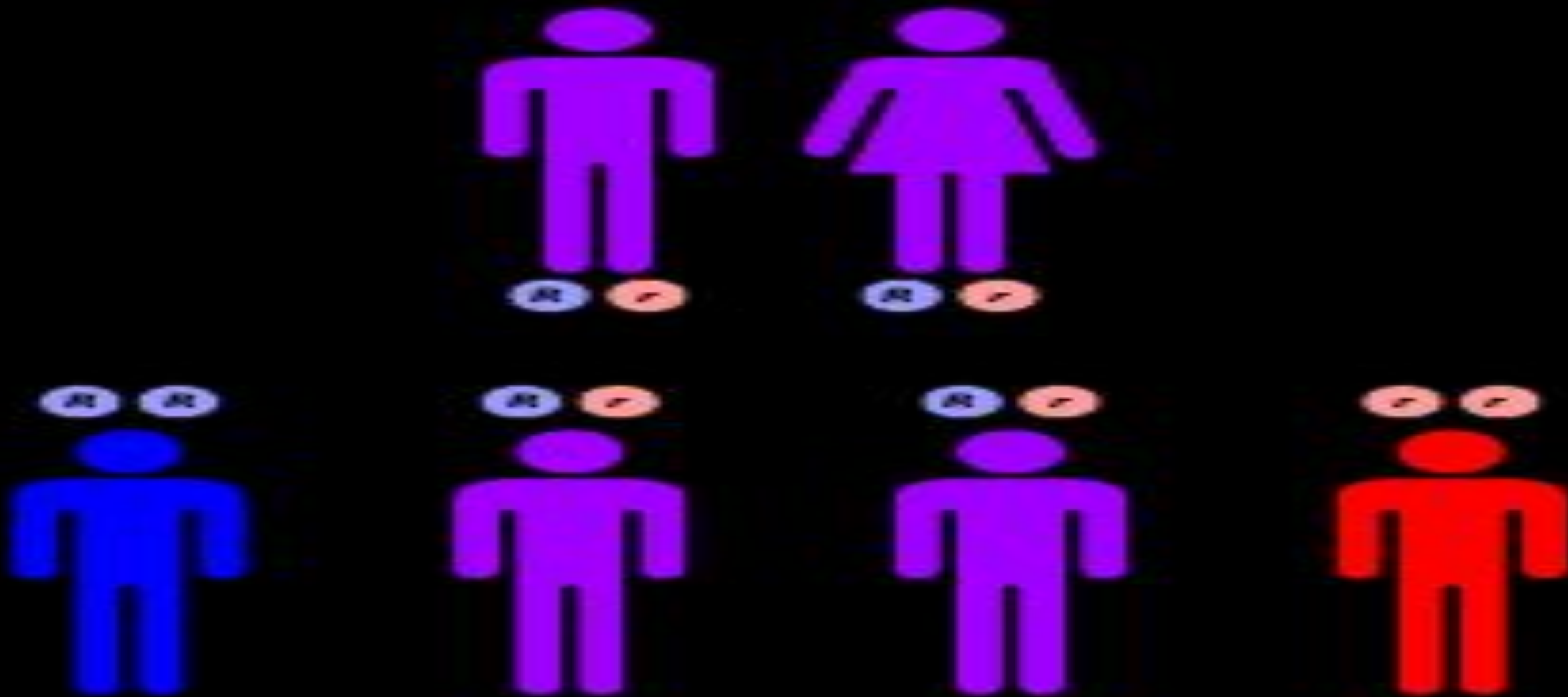
**Д**иагностируется у 5-10 % больных циррозом печени дошкольного и школьного возраста. Заболевание *передается аутосомно-рецессивно.*

Ген **ATP7B**, мутации которого вызывают заболевание, расположен на **13-й хромосоме** (**участок 13q14-q21**)

Ген кодирует Р-тип **АТФазы**, которая транспортирует **медь** в **желчь** и включает её в **церулоплазмин.**



Аутосомно-рецессивный тип наследования болезни Вильсона.  
25 % вероятность рождения больного у родителей-гетерозигот



**А**нглийский невролог Сэмюель Вильсон  
( *S. Wilson*, (1878 - 1937) в 1912 году

описал у больных:

- \* типичные изменения в головном мозге,
- \* клинику нового заболевания,
- \* установил постоянное наличие цирроза печени
- \* и назвал патологию  
**прогрессивной лентикулярной дегенерацией**  
(лат. *lenticularis* чечевицеобразный).

**Б**ыло предположено, что ген **PRNP** (кодирует прионный белок, активен в головном мозге и других тканях) участвует в транспорте меди.

**А вариации** в гене **PRNP** могут изменить течение болезни, увеличивая возраст появления заболевания и влияя на тип симптомов, которые развиваются.

**М**едь в организме выполняет множество функций. В основном она является кофактором для таких ферментов, как *церулоплазмин, цитохром -С-оксидаза, дофамин бета гидроксилаза, супероксиддисмутаза и тирозиназа.*

**М**едь всасывается из ЖКТ в тонкой кишке: транспортный белок на **СМТ1** (*Copper Membrane Transporter 1*) перемещает медь внутрь клеток.

**Ч**асть меди связывается с *металлотионеином*, а другая — перемещается в аппарат Гольджи с помощью транспортного белка **АТОХ1**.

В аппарате Гольджи в ответ на повышение концентрации меди **фермент АТР7А** (*Copper-transporting ATPase 1*) высвобождает этот элемент через *воротную вену* в *печень*.

**В** гепатоцитах белок **АТР7В**

1) связывает медь с церулоплазмином и высвобождает его в кровь,

2) удаляет избыток меди с выделяющейся жёлчью.

При болезни Вильсона обе функции **АТР7В** нарушены.

**М**едь накапливается в ткани печени; церулоплазмин продолжает выделяться, но с недостатком меди (апоцерулоплазмин) и быстро разрушается в кровотоке.

Когда меди в печени становится больше, чем белков её связывающих, происходит их окислительное повреждение .  
Это приводит к *гепатиту*, *фиброзу* и в итоге к *циррозу*.

Также из печени в кровоток выделяется медь, которая не связана с церулоплазмином.  
Эта свободная медь оседает по всему организму, особенно в почках, глазах и ГОЛОВНОМ МОЗГЕ.

Основную роль в патогенезе играет **накопление** меди в *нервной ткани* (особенно поражены базальные ганглии), *почках, печени и роговице* и **токсическое повреждение** медью данных органов.

Нарушение метаболизма выражается в нарушении синтеза и снижении в крови концентрации *церулоплазмينا*.



Церулоплазмин участвует в процессе выведения меди из организма.

В печени формируется крупноузловой или смешанный цирроз.

В почках в первую очередь страдают проксимальные канальцы.

В головном мозге помимо особенно сильного поражения базальных ганглиев, поражаются зубчатое ядро мозжечка и черная субстанция.

Отложение меди в десцеметовой мембране глаза приводит к формированию кольца Кайзера-Флейшера.

**К**ольца Кайзера-Флейшера:  
желтовато-зелёная или зеленовато-  
коричневая пигментация по  
периферии роговицы на десцеметовой  
мембране (задняя пограничная мембрана).

Кольца - отложения меди на границе  
роговицы и склеры внутри от лимба роговицы,  
в первую очередь появляются в форме  
полулуния на верхнем крае роговицы.

## Лечение

Патогенетическое лечение направлено на выведение меди из организма. Для этого применяются комплексообразующие соединения: тиолы, пеницилламин.

Лечение пеницилламином сопровождается заметным улучшением состояния больных или даже приводит к полной ликвидации симптомов.

Диета № 5 — с ограничением меди до 1 мг в сутки — исключение шоколада, орехов, сухофруктов, раков, печени, цельной пшеницы.

Препаратом выбора является **купренил** (пеницилламин), который эффективен в 90 % случаев. **Д-пеницилламин** или **унитиол**.



