

УДК 576.316 +613.952 +504.054

НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ РАЙОНОВ ПРИКАРПАТЬЯ

Кочерга З.Р.

*ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет»,
Ивано-Франковск, e-mail: zory72@mail.ru*

В результате проведенного цитогенетического исследования 174 здоровых новорожденных и 152 новорожденных с задержкой внутриутробного развития из разных районов Ивано-Франковской области доказано, что общее количество хромосомных aberrаций у здоровых новорожденных и новорожденных из ЗВУР из зоны экологического комфорта было в 2,0 и 2,33 и в 2,13 и 2,43 раза ниже по сравнению с аналогичными показателями у новорожденных из зон химического и радиационного загрязнения соответственно. У здоровых новорожденных из зоны экологического комфорта удельный вес aberrаций хромосомного и хроматидного типов составил соответственно 24,2 и 75,8%, в зонах химического и радиационного загрязнения соответственно 21,0 и 79,0%; 30,2 и 69,8%. У новорожденных из ЗВУР отмечены другие соотношения aberrаций хромосомного и хроматидного типов: в зоне экологического комфорта – 43,33 и 56,66%, в зоне химического загрязнения – 25,78 и 74,21%, в зоне радиационного загрязнения – 55,13 и 44,85% соответственно.

Ключевые слова: хромосомные aberrации, новорожденные, задержка внутриутробного развития, экологические зоны

GENOME INSTABILITY IN SMALL-FOR-DATE NEWBORNS FROM DIFFERENT ECOLOGICAL REGIONS OF PRECARPATHIA

Kocherha Z.R.

*Sate Higher Educational Establishment «Ivano-Frankivsk National Medical University»,
Ivano-Frankivsk, e-mail: zory72@mail.ru*

The results of cytogenetic investigation of 174 healthy and 152 small-for-date newborns from different districts of Ivano-Frankivsk region proved that the total amount of chromosomal aberrations in healthy newborns and small-for-date newborns from zones of ecological comfort was 2,0 and 2,33; 2,13 and 2,43 times lower as compared with analogical indices in infants from zones of chemical contamination and radiation pollution respectively. The proportion of aberrations of chromosome and chromatid types in healthy newborns from zones of ecological comfort made up 24,2 and 75,8%, while in neonates from zones of chemical contamination and radiation pollution it was 21,0 and 79,0%; 30,2 and 69,8%. The proportion of aberrations of chromosome and chromatid types in small-for-date newborns was: zone of ecological comfort – 43,33 and 56,66%, zones of chemical contamination – 25,78 and 74,21%, zones of radiation pollution – 55,13 and 44,85% respectively.

Keywords: chromosomal aberrations, newborns, small-for-date neonates, ecological zones

Среди многих нерешенных вопросов перинатологии задержка внутриутробного развития (ЗВУР) занимает одно из первых мест в структуре перинатальной заболеваемости и смертности. Возможность длительного воздействия нарушения питания плода и новорожденного на рост, развитие и заболеваемость в последующие годы жизни уже не вызывает сомнений [3]. Разнообразие причин и противоречивость данных литературы относительно факторов риска и патогенетических механизмов гипоксии плода, значительные трудности пренатальной диагностики синдрома ЗВУР обуславливают актуальность изучения этой патологии. Гипоксия и ее сочетание со ЗВУР является мультифакториальной патологией, в реализации которой важную роль играют как наследственные, так и внешнесредовые факторы. Уменьшение массы детей коррелирует с выраженностью нарушений основных регуляторных систем организма матери [5].

В последние годы накапливается все больше фактов, свидетельствующих о том,

что возникновение мутаций – сложный многоступенчатый процесс, тесно связанный с ростом и метаболизмом клеток с активностью ферментов, вовлеченных в осуществление репликации, репарации и рекомбинации ДНК, с взаимодействием ядерных и цитоплазматических генов [4]. Развитие методов аналитической химии показало наличие большого количества спонтанных повреждений ДНК, возникающих под влиянием экзо- и эндогенных причин, только небольшая часть которых реализуется в цитогенетические аномалии [8].

Среди методов изучения наследственного аппарата населения, проживающего в экологически неблагоприятных регионах, наиболее информативным и достоверным является цитогенетический контроль. Хотя он и не отражает в полной мере мутационную изменчивость, но позволяет учитывать уровень хромосомных нарушений в соматических клетках человека и дифференциацию химических и радиационных воздействий. Показано отсутствие полового

диморфизма по общей частоте хромосомных аберраций (ХА) и по отдельным типам повреждений хромосом [6]. Не выявлено изменений общей частоты хромосомных аберраций в зависимости от возраста, однако в старших возрастных группах зафиксирован рост количества фрагментов и снижение уровня хромосомных обменов.

Учитывая вышесказанное, целью работы было установление частоты и спектра хромосомных аберраций у здоровых новорожденных и новорожденных со ЗВУР из разных экологических регионов Прикарпатья.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования была пуповинная кровь 174 здоровых новорожденных и 152 новорожденных с задержкой внутриутробного развития из разных районов Ивано-Франковской области (табл. 1).

Распределение территорий Ивано-Франковской области на экологические зоны проводилось на основании экологического паспорта области и данных исследований экологического состояния Украины [2].

Проведение цитогенетического анализа новорожденных базировалось на исследовании кариотипа лимфоцитов пуповинной крови. Забор материала осуществляли стерильными шприцами с добавлением 0,01 мл гепарина, полученную смесь помещали в сумку-термос ($t = 5-7^{\circ}\text{C}$) и в течение 1–2 часов доставляли в аккредитованную генетическую лабораторию ГБУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет». Культивирование лимфоцитов и приготовление препаратов хромосом проводилось с помощью реактивов «PB MAX» фирмы «Gibco» по методическим рекомендациям, утвержденным МЗ Украины [1]. Окраску метафазных пластинок осуществляли GTG-методом. Исследование изготовленных препаратов проводили на оптико-электронном

комплексе «Метаскан-2». Анализировали метафазные пластинки с хорошим разбросом хромосом. От каждого ребенка проанализировано не менее 30 метафазных пластинок.

Таблица 1
Распределение новорожденных Ивано-Франковской области в зависимости от экологических условий проживания

Исследуемые группы	Экологические зоны		
	Экологического комфорта, $n = 119$	Химического загрязнения, $n = 110$	Радиационного загрязнения, $n = 97$
Здоровые новорожденные, $n = 174$	54	62	58
Новорожденные со ЗВУР, $n = 152$	65	48	39

Результаты исследования и их обсуждение

Отмечено тенденцию к увеличению общего количества ХА у детей из ЗВУР сравнительно с здоровыми новорожденными из всех исследуемых экологических зон (в 1,1–1,2 раза) (табл. 2). Общее количество ХА у здоровых новорожденных из зоны экологического комфорта было в 2,0 и 2,33 раза ниже по сравнению с аналогичными показателями у новорожденных из зон химического и радиационного загрязнения.

Таблица 2
Частота типов хромосомных аберраций в лимфоцитах пуповинной крови новорожденных Ивано-Франковской области

Типы аберраций	Количество аберраций у новорожденных разных экологических зон					
	Экологического комфорта на 100 клеток, $M \pm m$		Химического загрязнения на 100 клеток, $M \pm m$		Радиационного загрязнения на 100 клеток, $M \pm m$	
	Здоровые новорожденные	ЗВУР	Здоровые новорожденные	ЗВУР	Здоровые новорожденные	ЗВУР
Хромосомного типа:	0,30 ± 0,08	0,52 ± 0,01	0,54 ± 0,12	0,66 ± 0,12	1,42 ± 0,21*	1,61 ± 0,04
Парные фрагменты	0,23 ± 0,06	0,37 ± 0,08	0,48 ± 0,05	0,54 ± 0,05	0,84 ± 0,18*	0,96 ± 0,18*
Аномальные моноцентрики	0,04 ± 0,21	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,002	0,06 ± 0,002	0,23 ± 0,13*	0,24 ± 0,09*
Дицентрики	0	0,04 ± 0,21	0	0	0,25 ± 0,02	0,26 ± 0,15
Кольцевые хромосомы	0,03 ± 0,13	0,06 ± 0,03	0,02 ± 0,003	0,06 ± 0,003	0,10 ± 0,05*	0,15 ± 0,05*
Хроматидного типа:	0,78 ± 0,24	0,68 ± 0,24	1,62 ± 0,008	1,90 ± 0,008*	1,10 ± 0,25	1,31 ± 0,25*
Единичные фрагменты	0,710 ± 0,005	0,60 ± 0,03	1,40 ± 0,15*	1,42 ± 0,15*	1,05 ± 0,22*	1,25 ± 0,42*
Хроматидные обмены	0,07 ± 0,002	0,08 ± 0,01	0,22 ± 0,002*	0,48 ± 0,002*	0,05 ± 0,04	0,06 ± 0,04
Всего аберраций	1,08	1,20	2,16	2,56	2,52	2,92

Примечание. * – вероятность отличия показателей относительно зоны экологического комфорта ($p < 0,05$).

У новорожденных из ЗВУР общее количество ХА из зоны экологического комфорта было в 2,13 и 2,43 раза ниже аналогичных показателей у новорожденных из зон химического и радиационного загрязнения. Для определения отличий в интенсивности мутагенных нагрузок, возможности дифференциации химического и радиационного

влияния проводилось изучение спектра ХА. У здоровых новорожденных из зоны экологического комфорта удельный вес аберраций хромосомного и хроматидного типов составил соответственно 24,2 и 75,8%, из зон химического и радиационного загрязнения соответственно 21,0 и 79,0%, а также 30,2 и 69,8% (рис. 1).

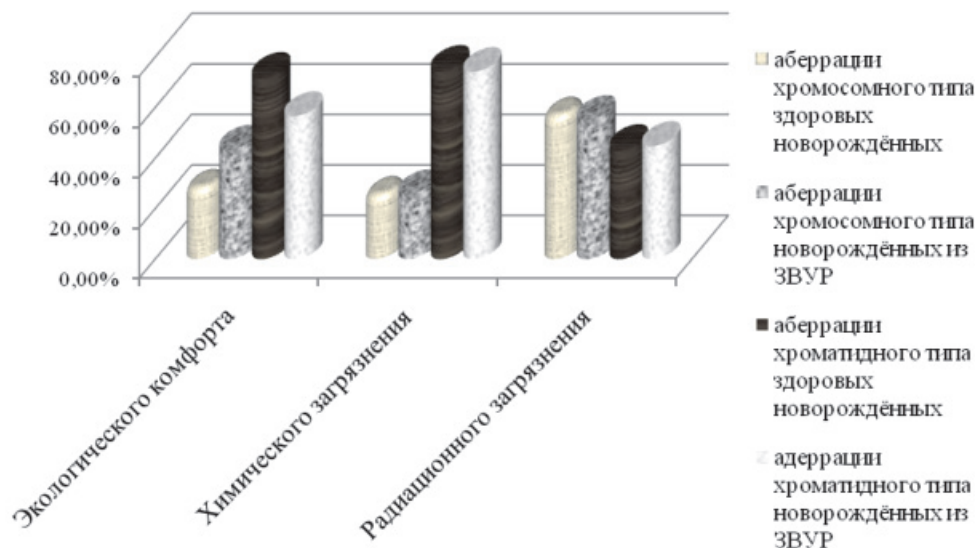


Рис. 1. Соотношения аберраций хромосомного и хроматидного типов у новорождённых разных экологических зон Ивано-Франковской области. По оси ординат указана частота ХА в %, по оси абсцисс – экологические зоны

Полученные данные близки к результатам других исследований о соотношении аберраций хроматидного и хромосомного типов как 77 и 23% [6]. У новорожденных из ЗВУР отмечено отличие в соотношении аберраций хромосомного и хроматидного типов: в зоне экологического комфорта – 43,33 и 56,66%, в зоне химического загрязнения – 25,78 и 74,21%, в зоне радиационного загрязнения – 55,13 и 44,85%, соответственно.

Анализ типа ХА у здоровых новорожденных доказал преобладание аберраций хроматидного типа (в среднем до 75%). У всех обследованных среди ХА чаще встречались делеции с единичными и парными фрагментами. В группе новорожденных из зоны химического загрязнения преобладали аберрации хроматидного типа (единичные фрагменты, хроматидные мосты), которые указывают на преимущество мутагенного фона химической природы. Частота единичных фрагментов в 2,0 и 1,3 раза преобладала над таковой у детей из зон комфорта и радиационного загрязнения соответственно (рис. 2).

Маркеры радиационного мутагенеза (дицентрики, парные фрагменты, разры-

вы) чаще встречались у новорожденных из районов с радиационным загрязнением, частота кольцевых хромосом была выше в 5,0 раз по сравнению с таковой у новорожденных из зон экологического комфорта и в 3,3 раза выше, чем у новорожденных из зоны химического загрязнения. Дицентрики встречались только у новорожденных из зоны с преобладанием радиационного загрязнения. Полученные нами данные свидетельствуют о большей частоте ХА у всех новорожденных из экологически неблагоприятных районов, что может указывать на негативное воздействие факторов окружающей среды на генетический аппарат их матерей.

У новорожденных с ЗВУР из зоны экологического комфорта в 1,73 раза чаще встречались аберрации хромосомного типа, среди них парные фрагменты в 1,60, кольцевые хромосомы в 2,0 раза по сравнению с группой здоровых новорожденных. В отличие от последних у новорожденных с ЗВУР из этой зоны определялись дицентрики, а количество аномальных моноцентриков практически не отличалось. В то же время частота аберраций хроматидного типа была ниже, чем у здоровых новорожденных

из этого региона. В группе новорожденных с ЗВУР из зоны химического загрязнения количество ХА хромосомного типа превышало таковую в 1,22, аномальных моноцентриков – в 1,5, а кольцевых хромосом – в 3 раза. Наблюдалась незначительная тенденция к увеличению aberrаций хроматидного типа, из них хроматидные обмены встречались в 2,18 раза чаще. В зоне радиационного загрязнения наблюдалась тенденция к увеличению ХА хромосомного типа у новорожденных из ЗВУР, частота аномальных моноцентриков и дицентриков практически не отличалась, а частота кольцевых хромосом в 1,5 раза была больше у новорожденных из ЗВУР. У последних обнаружена тенден-

ция к увеличению aberrаций хроматидного типа: единичные фрагменты и хроматидные обмены. В некоторых метафазных пластинках новорожденных с ЗВУР в 1 и 22 хромосомах наблюдались пробелы. Нестабильные ХА (дицентрики, кольца, фрагменты) приводят к гибели клеток, стабильные (транслокации, инсерции), как известно, сопровождают онтогенез, а также могут влиять на жизненно важные функции клеток [9]. Подобная генетическая нестабильность соматических клеток предусматривает глубокое влияние на генную экспрессию, что приводит к генетическим и эпигенетическим изменениям, а в дальнейшем к дегенерации и атрофии клеток, тканей.

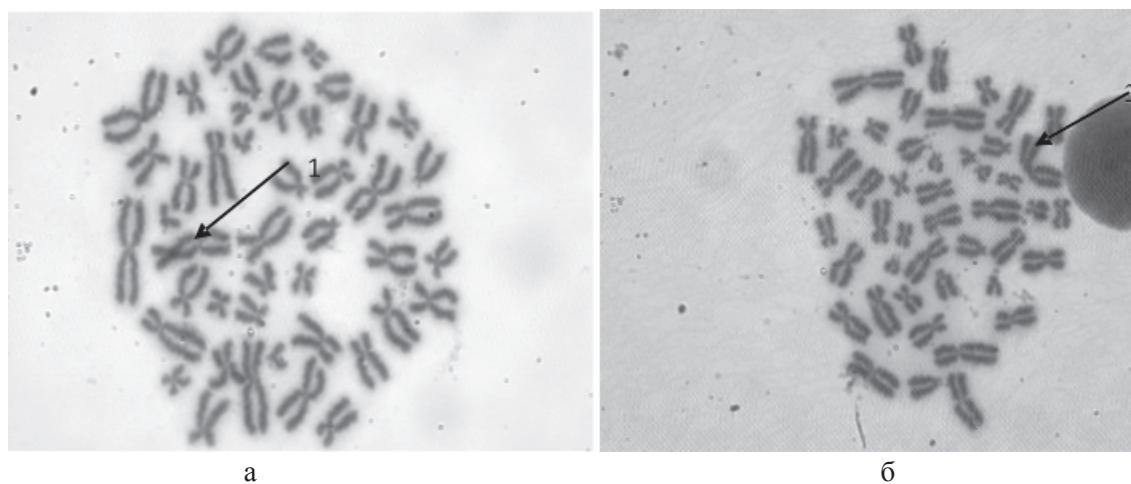


Рис. 2. Метафазные пластинки здорового новорожденного ребенка К. (А) новорожденного с синдромом ЗВУР Л. (Б) т, из зоны с неблагоприятными экологическими условиями. Окраска по Гимза. Микрофотографии. Ув.: ок. 15^х, об. 90^х.
Обозначения: 1 – дицентрик, 2 – единичный фрагмент

Полученные результаты соответствуют данным других авторов об отсутствии разницы по общей частоте ХА и по отдельным типам нарушений между лицами женского и мужского пола [7].

Закключение

Таким образом, общее количество ХА у здоровых новорожденных и новорожденных из ЗВУР из зоны экологического комфорта было в 2,0 и 2,33 и в 2,13 и 2,43 раза ниже по сравнению с аналогичными показателями у новорожденных из зон химического и радиационного загрязнения соответственно. У здоровых новорожденных из зоны экологического комфорта удельный вес aberrаций хромосомного и хроматидного типов составил соответственно 24,2

и 75,8%, в зонах химического и радиационного загрязнения соответственно 21,0 и 79,0%; 30,2 и 69,8%. У новорожденных из ЗВУР отмечены другие соотношения aberrаций хромосомного и хроматидного типов: в зоне экологического комфорта – 43,33 и 56,66%, в зоне химического загрязнения – 25,78 и 74,21%, в зоне радиационного загрязнения – 55,13 и 44,85% соответственно.

Перспективы дальнейших исследований в этом направлении состоят в сопоставлении полученных результатов с другими показателями структурных нарушений наследственного аппарата, установлении взаимосвязей хромосомных и генных патологий у здоровых новорожденных и новорожденных с синдромом ЗВУР.

Список литературы

1. Зерова-Любимова Т.Е. Цитогенетические методы исследования хромосом человека: методические рекомендации / Т.Е. Зерова-Любимова, Н.Г. Горovenko. – Киев, 2003. – 24 с.

2. Экологический паспорт Ивано-Франковской области (<http://www.menr.gov.ua/content/article/5982>).

3. Макаров О.В. Синдром задержки развития плода: современные подходы к фармакотерапии / О.В. Макаров, П.В. Козлов, Д.В. Насырова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2003. – № 6. – С. 18–22.

4. Настюкова В.В. Цитогенетические эффекты у детей при разных условиях воздействия малых доз ионизирующей радиации / В.В. Настюкова, Е.И. Степанова, В.И. Глазко // Цитология и генетика. – 2002. – № 6. – С. 38–45.

5. Нетребенко А.К. Отдаленное влияние питания плода и новорожденного на рост, развитие и состояние здоровья // Педиатрия. – 2004. – № 6. – С. 60–63.

6. Уровень спонтанных хромосомных aberrаций у детей с экологически чистого региона, определенных при цитогенетическом анализе равномерно окрашенных метафазных хромосом / М.А. Пилинская, С.С. Дыбский, О.В. Шеметун, О.О. Талан // Цитология и генетика. – 2004. – № 6. – С. 45–48.

7. Чеботарев А.Н. Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека // Вестн. РАМН. – 2001. – Т.37, № 10. – С. 64–69.

8. Marnett L.J. Endogenous DNA damage and mutation / L.J. Marnett, J.P. Plastars // Trends in genetic. – 2001. – 17, no. 4, № 4. – P. 214–221.

References

1. Zerova-Liubimova T.Ye., Horovenko N.H. Cytogenetic methods of human chromosomes study: Guidelines. Kyiv, 2003. 24 p.

2. Ecological certificate of Ivano-Frankivsk region (<http://www.menr.gov.ua/content/article/5982>).

3. Makarov O.V., Kozlov P.V., Nasyrova D.V. Fetal growth retardation syndrome: modern approaches to pharmacotherapy. Rosiyskiy vestnik akushera-ginekologa. 2003;6:18–22.

4. Nastiukova V.V., Stepanova Ye.I., Glazko V.I. Cytogenetic effects in children in terms of exposure to small doses of radiation. Cytology and Genetics. 2002; no. 6. pp. 38–45.

5. Netrebenco A.K. Long-term influence of fetal and newborn's nourishment on the growth, development and state of health. Peditria. 2004;6:60–63.

6. Pilinska M.A., Dybskiy S.S., Shemetun O.V., Talan O.O. The level of spontaneous chromosomal aberrations in children from ecologically clean regions, as found by means of cytogenetic analysis of uniformly stained metaphase chromosomes. Cytology and Genetics. 2004; no. 6. pp. 45–48.

7. Chebotariov A.N. Regularities of chromosomal variability of human somatic cells. Vestnik. Russian Academy of Medical Sciences. 2001; 37 (10) 64–69.

8. Marnett L.J. Endogenous DNA damage and mutation / L.J. Marnett, J.P. Plastars // Trends in genetic. 2001. 17, no. 4. pp. 214–221.

Рецензенты:

Ковальчук Л.Е., д.м.н., профессор, зав. кафедры медицинской биологии и медицинской генетики, ВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет», г. Ивано-Франковск;

Попадинец О.Г., д.м.н., профессор кафедры анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет», г. Ивано-Франковск.
Работа поступила в редакцию 05.12.2013.