

ваний цитогенетичний спосіб виявлення осіб, гіперчутливих до опромінення ( $G_2$ -radiation sensitivity assay), який доцільно застосовувати з метою профілактики радіогенного раку. Експериментально обґрунтовано використання радіопротектора інозину при дії малих доз опромінення.

**Ключові слова:** радіочутливість, генетичні пошкодження, радіогенний рак, профілактика, інозин.

**Демина Э.А. Усовершенствование первичной профилактики радиогенных опухолей на основе цитогенетических исследований.**

Освещены современные цитогенетические аспекты и стратегия профилактики развития злокачественных новообразований радиационного генеза. Установлена канцерогенная опасность действия малых доз радиации. Разработан и предложен цитогенетический способ выявления лиц, гиперчувствительных к облучению ( $G_2$ -radiation sensitivity assay), который целесообразно использовать с целью профилактики радиогенного рака. Экспериментально обосновано использование радиопротектора инозина при действии малых доз радиации.

**Ключевые слова:** радиочувствительность, генетические повреждения, радиогенный рак, профилактика, инозин.

**Domina E.A. The improvent of the primary prevention of human radiogenic cancer on based of cytogenetic researches.**

The article analyses current cytogenetic aspects and strategies of the prevention of radioactive cancer. It proves the danger of small radiation dozes. A cytogenetic method is proposed to detect persons who are hypersensitive to radiation ( $G_2$ -radiation sensitivity assay). It should be used to prevent radiogenic cancer.

**Key words:** radiosensitivity, genetic lesions, radiogenic cancer, prevention, inosine.

## **РОЛЬ ЗАСТОСУВАННЯ ЦИТОГЕНЕТИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ГЕНЕТИЧНОГО КОНСУЛЬТУВАННЯ ПРИ ОБСТЕЖЕННІ ПОДРУЖНИХ ПАР З БЕЗПЛІДДЯМ, ЯКІ ЗВЕРНУЛИСЯ ДО ПОСЛУГ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

**О.Г.Євсеєнкова<sup>1</sup>, Л.І.Брішевац<sup>1</sup>, Д.В.Процюк<sup>1</sup>, С.В.Подольська<sup>1</sup>, В.Ю.Сіренко<sup>2</sup>, Ф.В.Дахно<sup>2</sup>, Н.Г.Горovenko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика Кафедра медичної та лабораторної генетики, м. Київ, Україна*

<sup>2</sup> *Інститут репродуктивної медицини, м. Київ, Україна*

### **Актуальність теми**

Однією зі складових поняття «здоров'я нації» є стан репродуктивної функції населення країни. Безпліддя істотно впливає не тільки на демографічний розвиток країни, але й на соціальну ситуацію в країні та зачіпає інтереси великої групи населення репродуктивного віку. Процеси депопуляції, які характеризують сучасне суспільство, ставлять безпліддя в ряд важливих медичних проблем сьогодення. Так, близько 10-20% подружніх пар в усьому світі страждають на безпліддя, а 15-20% вагітностей закінчуються викиднями [1-3]. За даними офіційної статистики, рівень безпліддя в Україні складає 2,8-3,5 на 1000 осіб жіночої статі та 0,3 на 1000 осіб чоловічої статі. Однак соціологічні дослідження показують, що небажане безпліддя має місце у 6-8% родин в Україні, що складає близько 1 млн безплідних подружніх пар [4, 5].

Однією з багатьох причин, які можуть призводити до виникнення та розвитку безпліддя, є зміни у хромосомному наборі в одного, а інколи і в обох членів подружньої пари. Досвід генетичного консультування показує, що кожна восьма подружня пара з порушенням репродуктивної функції потребує комплексного обстеження та залучення сучасних методів цитогенетичної діагностики. Дослідження генетичних причин, які можуть призводити до виникнення як жіночого, так і чоловічого безпліддя, також набувають особливо-

го значення у зв'язку з впровадженням та стрімким поширенням застосування різних видів допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) для лікування безпліддя. Відомо, що у загальній популяції рівень хромосомних аномалій (ХА) складає 0,5-3,0%, в той час як серед пацієнтів з порушенням фертильності частка осіб з хромосомними аномаліями збільшується до 7-10%, а серед чоловіків з азооспермією сягає 20% [6].

Існує думка, що застосування ДРТ, особливо ICSI (intra cytoplasmic sperm injection), для лікування пацієнтів, у яких виявлено зміни каріотипу, збільшує ймовірність народження дітей з хромосомною патологією (ХП), моногенними захворюваннями, вродженими вадами розвитку (ВВР), а також із хворобами геномного імпринтингу. Поряд з цим у цитогенетичній діагностиці подружніх пар з порушенням репродуктивної функції і в практиці медико-генетичного консультування (МГК) однією з найскладніших проблем є виявлення в каріотипі одного (або обох) членів родини хромосомного мозаїцизму – наявності в організмі одного або декількох клонів клітин з числовою або структурною аномалією хромосом одночасно з клоном клітин із нормальним набором хромосом. Так, хромосомний мозаїцизм може бути причиною несприятливого перебігу вагітності, внутрішньоутробної затримки розвитку плода, ВВР та розумової відсталості. Мозаїцизм у статевих клітинах (яйцеклітинах, сперматозоїдах) може призводити до повторних випадків народження дітей з ХА (регулярними трисоміями або транслокаціями). Складності клінічної діагностики таких носіїв мозаїчного каріотипу полягають у відсутності у них змін у фенотипі або наявності лише незначних стигм дисембріогенезу, що не дозволяє запідозрити ХП у таких осіб. У цих випадках лише знижена фертильність або спонтанні аборти є приводом звернення подружньої пари до медичних установ. Застосування ДРТ у подружжя, де один є носієм мозаїцизму, може призводити до невдалих спроб під час штучного запліднення або збільшення ризику народження дитини з ХП. В той же час проінформованість про виявлені під час цитогенетичного аналізу зміни у каріотипі подружжя дозволяють лікарю-генетику розрахувати ризики виникнення ХП у плода, а лікарям, що проводять цикли ДРТ, вчасно коригувати лікування безпліддя із застосуванням сучасних методів преімплантаційної та пренатальної діагностики з урахуванням кожного конкретного випадку.

Саме тому в умовах широкого впровадження репродуктивних технологій, для лікування безпліддя особливо важливим є питання застосування сучасних методів дослідження ХП, в тому числі цитогенетичних, молекулярно-цитогенетичних, молекулярно-генетичних і молекулярних, а також вдосконалення схем МГК подружніх пар з порушенням репродуктивної функції.

**Метою роботи** було вивчення впливу генетичної компоненти у виникненні безпліддя серед пацієнтів з порушенням репродуктивної функції, які звернулися до послуг ДРТ, та визначення ролі цитогенетичного аналізу і генетичного консультування при обстеженні такого подружжя.

### Матеріал і методи дослідження

Матеріалом дослідження були лімфоцити периферійної крові 270 пацієнтів репродуктивного віку (135 родин), які у 2003-2005 рр. звернулися до Інституту репродуктивної медицини у зв'язку з безпліддям. Вік пацієнтів коливався від 22 до 57 років і в середньому складав  $38 \pm 0,5$  року.

Медико-генетичне консультування було проведене співробітниками кафедри медичної та лабораторної генетики НМАПО імені П.Л.Шупика за участю лікарів Інституту репродуктивної медицини (м. Київ). Цитогенетичне дослідження пацієнтів з порушенням репродуктивної функції, що звернулися до послуг ДРТ, проводили у цитогенетичній лабораторії кафедри медичної та лабораторної генетики.

За результатами клініко-генеалогічного аналізу подружні пари з порушеннями репродуктивної функції були поділені на дві групи. До першої групи увійшло 148 осіб (74 подружні пари) з первинним безпліддям в анамнезі. До другої групи увійшли 122 особи із вторинним безпліддям в анамнезі (61 подружня пара). Перша та друга групи склали 54,8% та 45,2% від загальної кількості обстежених осіб з репродуктивними розладами відповідно. Кількість родин, в яких було обстежено тільки одного з членів родини, становила 13. Загальна кількість пацієнтів, яким був проведений цитогенетичний аналіз, склала 257 осіб, серед яких 135 жінок і 122 чоловіків.

Цитогенетичне дослідження проводили на препаратах метафазних та прометафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові за стандартними методиками [7]. Відбір метафазних пластинок для

цитогенетичного аналізу, класифікацію і облік хромосомних варіантів здійснювали за загальноприйнятими стандартами. Запис аналізу проводили за міжнародною номенклатурою [8].

Для кожного пацієнта з репродуктивними розладами аналізували не менше 29 метафазних пластинок. При мозаїцизмі або виявленні маркерної хромосоми аналіз збільшували до 100 клітин.

### Результати дослідження та їх обговорення

Результати цитогенетичного аналізу подружніх пар з первинним та вторинним безпліддям наведені в таблицях 1 та 2.

Т а б л и ц я 1

#### Кількісні зміни, виявлені в каріотипі подружніх пар з репродуктивними розладами різного походження (загальна група 257 осіб)

Особа	Первинне безпліддя	Вторинне безпліддя
Жінки	mos 45,X [2]/46,XX [98] {2 випадки}	mos 47,XXX [2]/45,X [1]/46,XX [97] {1 випадок}
	mos 45,X [2]/47,XXX [2]/46,XX [96] {1 випадок}	mos 45,X [4]/47,XXX [1]/46,XX [95] {1 випадок}
	mos 47,XXX [3]/45,X [1]/46,XX [96] {1 випадок}	mos 45,X [2]/46,XX [98] {4 випадки}
	mos 45,X [4]/47,XXX [2]/46,XX [94] {1 випадок}	mos 45,X [3]/46,XX [97] {1 випадок}
	mos 47,XX,+mar [3]/46,XX [97] {1 випадок}	mos 45,X[2]/47,XXX [1]/46,XX [97] {1 випадок}
	mos 45,[1]/46,XX [99] {1 випадок}	mos 45,X [3]/46,XX [97] {1 випадок}
	mos 45,X [3]/47,XX,+ mar [2]/48,XXX,+ mar [1]/46,XX [94] {1 випадок}	mos 45,X [3]/46,XX [97] {1 випадок}
	mos 45,X [2]/47,XXX [1]/46,XX [97] {1 випадок}	mos 45, X [2] / 47, XXX [1] / 46, XX [85] {1 випадок}
	mos 45,X [3]/46,Xi(X)(p10) [1]/46,XX [96] {1 випадок}	mos 45, X [1]/ 46, XX [99] {1 випадок}
	mos 45,X [2]/47,XXX [2]/46,XX [96] {1 випадок}	mos 45, X [2] / 47, XX, +mar [2]/ 46, XX [96] {1 випадок}
	mos 45,X [4]/46,XX [96] {1 випадок}	mos 45, X [4] / 46, XX [96] {1 випадок}

Продовження табл. 1

1	2	3
	mos 47,XXX [3]/45,X [1]/49,XXXXX [1]/46,XX [95] {1 випадок}	mos 45, X [2] / 47, XX, +21 [2]/ 47, XXX [1]/ 46, XX [95] {1 випадок}
Чоловіки	mos 47,XXY [1]/46,XY [99] {1 випадок}	Не виявлено
	mos 48,XXX [1]/46,XY [99] {1 випадок}	
	mos 47,XY [2]/46,XY [98] {1 випадок}	

Як видно з таблиці 1, під час цитогенетичного аналізу було встановлено 29 випадків (21,5%) мозаїцизму за хромосомою X серед жінок з первинним та вторинним безпліддям, що склало 10,4% та 11,1% відповідно. Додатково до мозаїцизму за хромосомою X, у двох випадках (1,5%) у каріотипі жінок з первинним безпліддям та в одному випадку (0,7%) у каріотипі жінки із вторинним безпліддям було визначено наявність маркерної хромосоми.

Серед чоловіків кількісні зміни за статевими хромосомами були виявлені лише у групі із первинним безпліддям (2,4%). Серед них були встановлено два випадки додаткової хромосоми X (1,6%) та один випадок додаткової хромосоми Y (0,8%).

Як представлено в таблиці 2, всього було виявлено 4 випадки (2,9%) структурних перебудов за участю різних хромосом у жінок з первинним та вторинним безпліддям, що склало 0,7% та 2,2% відповідно.

Т а б л и ц я 2

#### Структурні перебудови, виявлені в каріотипі подружніх пар з репродуктивними розладами різного походження (загальна група 257 осіб)

Особа	Первинне безпліддя	Вторинне безпліддя
Жінки	46, XX, inv(10)(p12q21) {1 випадок}	46, XX, inv (8) (p21.2q21.3) {1 випадок}
		46, XX, t(4;6)(q21.2;q21) {1 випадок}
		46, XX, t (1;19)(p10;q10) {1 випадок}
Чоловіки	46, XY, t(10;12)(q11.2;q13.1) {1 випадок}	Не виявлено

Хромосомні аномалії в осіб серед подружніх пар з репродуктивними розладами різного походження (загальна група 257 осіб)

Хромосомні аномалії	Кількість випадків			% від загальної кількості осіб в основній групі (n=257)
	♀	♂	Всього	
Мозаїчний каріотип	29	3	32	12,5±2,9
Додаткова маркерна хромосома	3	0	3	1,2±1,1
Транслокація	2	1	3	1,2±1,1
Інверсія	2	0	2	-

У чоловіків структурні перебудови були виявлені лише в одному випадку у групі з первинним безпліддям, що склало 0,8% від загальної кількості обстежених чоловіків.

Окремої уваги заслуговують випадки інверсії хромосоми 9, що згідно з ISCN є варіантом норми. Інверсії гетерохроматинового блоку хромосоми 9 були виявлені у каріотипі 4 жінок (2,9%), з них у групі жінок з первинним безпліддям у 2 випадках (1,8%) та у групі із вторинним безпліддям також у 2 випадках (1,8%). Серед чоловіків інверсію гетерохроматинового блоку хромосоми 9 було виявлено у 2 випадках (1,6%) у групі із первинним безпліддям та у 3 випадках (2,5%) у групі із вторинним безпліддям (табл. 3).

Таблиця 3

Виявлення інверсії хромосоми 9 серед подружніх пар з репродуктивними розладами різного походження (загальна група 257 осіб)

Особа	Первинне безпліддя	Вторинне безпліддя
Жінки	46, XX, inv (9)(p12q12) {2 випадки}	46, XX, inv (9) (p11q12) {2 випадки}
Чоловіки	46, XY, inv (9)(p12q12) {2 випадки}	46, XY, inv (9)(p12q12) {1 випадок}
		46, XY, inv(9)(p12;q21) {1 випадок}
		46, XY, inv(9) (p11q21) {1 випадок}

Серед 257 осіб з репродуктивними розладами різного походження хромосомні зміни виявлені у 142 (52,6%) пацієнтів, за даними ISCN складає 5%. До змін каріотипу відносили хромосомні аномалії та хромосомні варіанти, які вважаються поліморфізмом (варіантом норми).

Хромосомні аномалії були виявлені у 37 пацієнтів (14,4%), серед яких 33 жінки і 4 чоловіки. Кількість та тип аномалій наведені в таблиці 4.

Дослідження виявило 12,5% осіб з мозаїчним каріотипом від загальної кількості обстежених пацієнтів.

Геномні мутації (анеуплоїдії та поліплоїдії) привертають все більшу увагу дослідників через значний вплив цих порушень на розвиток патологічного стану. Не викликає сумнівів, що хромосомні порушення відіграють важливу роль в етіології вроджених вад розвитку та ембріональної загибелі [9].

Серед виявлених випадків мають місце хромосомні аномалії, пов'язані з мозаїзмом гоносом. Наявність в каріотипі невисокого відсотку клітин з анеуплоїдією за гоносомами (<6-10%) трактується деякими авторами як мінімальний мозаїцизм (low level mosaicism) або «прихований» мозаїцизм і є предметом для дискусії серед багатьох дослідників. Різні погляди існують як у визначенні самого явища мінімального мозаїцизму, так і в методологічних підходах до його аналізу (кількість проаналізованих клітин для встановлення мозаїцизму тощо). Так, відомо, що виявлення однієї клітини з анеуплоїдією за хромосомою X або Y при проведенні цитогенетичного аналізу сприймається як артефакт та не реєструється у цитогенетичному заключенні. В той же час показано, що незначний клон з аномальними клітинами може бути і не виявлений при цитогенетичному аналізі [10, 11]. Тому поширення «прихованого мозаїцизму» серед подружніх пар з порушенням репродуктивної функції на сьогодні ще не визначено остаточно і вимагає більш ретельного обстеження. Результатами наших досліджень встановлено наявність клонів з хромосомними відхиленнями у 39 осіб, в основному у жінок (12,5%). Суттєві відмінності наших результатів від літературних даних можуть бути пов'язані у тому числі і з методичними особливостями дослідження – обов'язкового вивчення 100 метафазних пластинок при знаходженні хоча б однієї клітини з аномаліями хромосом. Певне, саме такий підхід і дозволяє наблизитись до більш повного виявлення «прихованого» мозаїцизму для подальшої оцінки значення цього феномена у виникненні порушень репродуктивної

функції. Складнощі діагностики пов'язують також із варіюванням співвідношення між клонами в різних тканинах організму пацієнта і, як правило, низьким рівнем мозаїцизму в доступних для цитогенетичного аналізу тканинах (лімфоцитах периферійної крові пацієнтів) [12]. Така ситуація створює певні труднощі під час трактування результатів, отриманих при проведенні цитогенетичного дослідження подружніх пар з порушенням репродуктивної функції й ускладненим акушерським анамнезом, та може впливати на рішення щодо можливості застосування ДРТ у кожному конкретному випадку.

Точно встановити присутність або відсутність клону (клонів) клітин з аномальною кількістю хромосом X або Y і встановити співвідношення клонів клітин з нормальним і аномальним вмістом гоносом стало можливим завдяки впровадженню у лабораторну практику молекулярно-цитогенетичних методів діагностики хромосомної патології (FISH-методу) [10]. Тому всі випадки «прихованого» мозаїцизму повинні бути додатково досліджені з використанням FISH-аналізу із застосуванням ДНК-зондів на центромерні ділянки хромосом X та Y.

Під час цитогенетичного аналізу у нашому дослідженні у трьох осіб з 257 (1,2%) було виявлено метафазні пластинки з додатковою маркерною хромосомою:

- 1) 47, XX, +mar [3] / 46, XX [97];
- 2) 45, X[3]/47, XX,+mar[2]/ 48, XXX,+mar [1]/ 46, XX [94];
- 3) 45, X [2] / 47, XX, +mar [2]/ 46, XX [96].

За даними літератури, маркерні хромосоми (хромосомний матеріал невідомого походження) серед репродуктивно здорового населення зустрічаються з частотою 1-2 випадки на 1000 аналізів (0,1-0,2%) [13]. Встановити природу та походження маркерної хромосоми за допомогою цитогенетичного методу досить важко, тому що маркерна хромосома – це структурно змінена хромосома, яка може складатися з хромосомного матеріалу як однієї, так двох та більше хромосом. В той же час наявність у каріотипі жінки маркерної хромосоми, що походить від Y-хромосоми, є поганим прогностичним фактором, особливо при застосуванні ДРТ, тому що гормональна підготовка до штучного запліднення може призводити до запуску онкологічного процесу в організмі жінки та сприяти розвитку гонадобластоми та інших пухлин у таких пацієнток.

Під час цитогенетичного дослідження 257 осіб нами було виявлено транслокації у трьох випадках, що склало 1,2%. Отримані нами результати співпадають з даними літератури [14], де вказується, що частота збалансованих аутосомних транслокацій у подружніх пар з репродуктивними розладами у 7 разів вища (1,14%), ніж в цілому серед населення (0,16%).

Носії збалансованих транслокацій складають значну частину пацієнтів з безпліддям, які потребують лікування із залученням методів ДРТ. В той же час при застосуванні ДРТ існує висока ймовірність успадкування структурно зміненого хромосомного набору від батьків до плода та народження дитини із ХП [15]. В родинях носіїв збалансованих структурних перебудов часто мають місце спонтанні аборти, спричинені незбалансованістю в каріотипі плода. Тому інформованість щодо наявності змін у каріотипі подружжя дозволяє вчасно вибрати правильну тактику лікування безпліддя у кожному конкретному випадку, запобігти невдалим спробам під час штучного запліднення та народженню дитини із ХП.

Звертає на себе увагу той факт, що всі три подружні пари, у яких в одного з партнерів була виявлена транслокація, мали обтяжений анамнез або ускладнення під час лікування. Перша пара пройшла наступні програми: ГМС-ІСМ, ІСМ, КСО-ОІВ-Д, ет-кріо, ІСД, за якими, однак, не отримала позитивного результату. Тільки проведення інсемінації спермою донора призвело до вагітності. У другій парі в анамнезі був аборт; програма КСО-ІКСІ не дала позитивного результату. Жінка з третьої пари перенесла позаматкову вагітність, що обумовило подальший діагноз – «трубне безпліддя», з яким і звернулась в Інститут для проведення ДРТ.

Багато авторів відмічають підвищений рівень ХА у пацієнтів, які звертаються до послуг репродуктивної технології [6, 11, 13]. За даними літератури, з 261 обстеженої подружньої пари, які проходили курс ІКСІ, у 4,2% чоловіків і 1,2% жінок знайдено аномалії хромосом: у 3% чоловіків і 0,7% жінок виявлені транслокації, у 0,7% чоловіків і 0,4% жінок – інверсії [16].

В нашому дослідженні поряд з хромосомними аномаліями у 117 (45,5%) осіб з репродуктивними розладами було виявлено поліморфізм гетерохроматинових ділянок, супутників та супутникових ниток певних хромосом, що відповідно до ISCN розцінюється як варіант норми. Каріотипи деяких пацієнтів включали одночасно хро-

мосомні варіанти в декількох хромосомах, що разом склало 166 змін.

В таблиці 5 наведені варіанти каріотипу у подружніх пар з різними репродуктивними розладами.

Т а б л и ц я 5

**Хромосомні варіанти, що були виявлені у каріотипі поружніх пар з репродуктивними розладами різного походження (загальна група 257 осіб)**

Хромосомні варіанти	Кількість осіб (загальна група n=257)			% від загальної кількості осіб
	♀	♂	Всього	
(Yqh+, Yqh-)	-	19	19	15,6±3,6 (від кількості чоловіків)
Інверсії:	6	5	11	4,3±2,0
inv(9)(p12q21)	0	1	1	0,4±0,6
inv(9)(p11q21)	2	1	3	1,2±1,1
inv(9)(p12q12)	2	3	5	1,9±1,4
Збільшення гетерохроматинового району хромосом 1, 9, 16	22	12	34	13,2±3,0
Збільшення розмірів супутників або супутникових ниток	32	40	72	28,0±2,8

Відомо, що зміни навколоцентомерного гетерохроматину хромосом 1, 9, 16 і Y, як в сторону збільшення, так і зменшення, зустрічаються у загальній популяції і вважаються варіантом норми. Однак, за даними літератури, збільшення гетерохроматинових блоків спостерігається значно частіше серед подружніх пари з порушеннями репродуктивної функції, що дозволяє деяким авторам відносити таке подружжя до групи ризику. Хромосомні варіанти 1qh+ та 9qh+ частіше за інші виявляють серед матеріалу спонтанних абортів та у дітей з вродженими вадами розвитку. Накопичений в цитогенетиці людини досвід дає можливість вважати, що варіабельність гетерохроматинових районів хромосом, особливо в сторону збільшення, може призводити до негативних наслідків.

Під час нашого дослідження було виявлено 19 випадків поліморфізму хромосоми Y, що склало 15,6% від усіх обстежених чоло-

віків. Варіабельність розмірів хромосоми Y у людини добре відома. Деякі автори намагались провести паралель між розмірами хромосоми Y та психічним станом чоловіка, відхиленнями у поведінці, викиднями у його дружини. Існує думка, що розмір хромосоми Y може впливати на нерозходження хромосом у мейозі і призводити до появи хромосомних аберацій у нащадків. Однак дані про вплив хромосомних варіантів на стан репродуктивної функції неоднозначні. Тому на сьогодні неможливо впевнено зробити висновок щодо ролі варіювання розміру гетерохроматинової області хромосоми Y у виникненні порушень репродуктивної функції. Тому підвищена частота хромосомних варіантів, яку знаходять у безплідних чоловіків, потребує подальшого вивчення.

Існують посилання на високу частоту спонтанних абортів у жінок, які мають чоловіків зі збільшеним гетерохроматиновим районом хромосоми Y. За даними деяких авторів [17-19], було встановлено зв'язок між чоловічим безпліддям та варіаціями гетерохроматину хромосоми Y. У чоловіків, які мали невдалі спроби штучного запліднення, відмічали значне збільшення довгого плеча хромосоми Y (Yqh+), серед цієї групи знайдено також випадок делеції гетерохроматинової ділянки довгого плеча хромосоми Y (46, XYqh-).

Треба зазначити, що в нашому дослідженні кількість інверсій налічує 11 випадків, серед яких було виявлено 9 інверсій гетерохроматинового району хромосоми 9 та по одному випадку інверсії хромосом 8 та 10. Щодо зміни каріотипу внаслідок інверсії хромосоми 9 ведуться дискусії, в яких частина авторів вважає, що інверсія гетерохроматинового району хромосоми 9 не впливає на будь-які репродуктивні функції, в той час як інші автори, навпаки, наполягають, що даний поліморфізм каріотипу може впливати на процеси поділу клітини та порушення репродуктивної функції у людини [13]. Ми сподіваємось, що накопичення даних у цій області та стрімкий розвиток молекулярно-цитогенетичних технологій дозволить визначити роль інверсії гетерохроматинового району хромосоми 9 у порушенні репродуктивної функції у людини вже у найближчі роки. З'ясування цього питання є необхідним у зв'язку з тим, що серед обстежених нами безплідних подружніх пар інверсія гетерохроматинового району хромосоми 9 зустрічалась у 3,6% випадків, а ці пацієнти потребують зміни тактики ДРТ та медико-генетичного консультування.

У нашому дослідженні серед обстежених осіб були виявлені випадки збільшення гетерохроматинового району хромосоми 1, 9 та 16 (табл. 6).

Т а б л и ц я 6

**Зміни гетерохроматинового району в осіб з репродуктивними розладами різного походження (загальна група 257 осіб)**

Хромосомні варіанти	Кількість випадків (загальна група n=257)			% від загальної кількості осіб
	♀	♂	Всього	
1qh+	6	6	12	4,7±2,0
9qh+	15	6	21	8,2±2,5
16qh+	3	4	7	2,7±1,6

Серед хромосомних варіантів зустрічаються випадки збільшення гетерохроматинового району довгого плеча хромосоми 16. Вивчення анамнезу вказує на те, що жодна із семи пар, у яких в генотипі виявлений варіант 16qh+, не отримала позитивного результату під час неодноразового застосування ДРТ. У трьох жінок спостерігались викидні на 4-5 тижні вагітності, а у двох – позаматкова вагітність. Між тим в літературі представлені дані [20], що серед хромосомних аномалій у самовільних викиднів найчастіше зустрічається трисомія по хромосомі 16. Тому, можливо, враховуючи роль, яку відіграє гетерохроматин у процесі мітозу, збільшення навколоцентромерної гетерохроматинової ділянки хромосоми 16 та випадки трисомії хромосоми 16 у самовільно абортіваних плодів мають між собою зв'язок, що потребує подальшого вивчення.

Збільшення розмірів супутників або супутникових ниток було зафіксовано нами для акроцентричних хромосом 13, 14, 15, 21, 22 та хромосоми 17. У 72 осіб було виявлено збільшення розмірів супутників або супутникових ниток, наявність подвійних супутників, що склало 28,0% від загальної групи. Цей показник є вищим за дані деяких публікацій [13], де їх частка дорівнює 3,3%. Супутники на короткому плечі хромосоми 17 частіше зустрічаються у пацієнтів з невиношуванням вагітності і повторними викиднями у родинному анамнезі, ніж у популяції [21]. Частота виявлених нами хромосомних варіантів 22pss+, 22pstk+pss+ у чоловіків була вищою, ніж у жінок (p<0,05). За іншими варіантами змін не було виявлено.

## Висновки

1. Висока частота хромосомних аномалій у осіб з порушенням репродуктивної функції та підвищений ризик успадкування таких аберацій нащадками подружніх пар, що звернулися до послуг ДРТ, вимагає застосування цитогенетичного аналізу вже на першому етапі обстеження чоловіків та жінок з безпліддям з метою попередження народження дитини з хромосомною патологією та запобігання невдач під час штучного запліднення.

2. Для повного виявлення усіх випадків мозаїцизму при виявленні хоча б однієї метафазної пластинки з будь-якими аномаліями необхідно проводити аналіз не менше ніж 100 метафазних пластин.

3. Отримані результати підтверджують необхідність проведення кожній парі з безпліддям та іншими порушеннями репродуктивної функції, що планують застосування ДРТ, медико-генетичного консультування, яке дозволить об'єктивно визначити найбільш раціональний протокол проведення ДРТ. Це дозволить досягти найбільш безпечного для жінок та ефективного для подружньої пари лікування порушень репродуктивної функції.

## Література

1. Логинова Ю.А. Цитогенетическое исследование и микроделеционный анализ локусов AZF у пациентов с азооспермией и олигозооспермией неясного генеза перед проведением ИКСИ / Ю.А. Логинова, И.И. Нагорная, С.А. Шлыкова [и др.] // Проблемы репродукции. – 2000. – №5. – С.27-33.
2. Практическая гинекология: Клинические лекции / Под ред. В.И. Кулакова, В.Н. Прилепской. – М.: МЕД пресс-информ, 2002. – С.441-443.
3. Репродуктивное здоровье: Руководство для врачей / Под ред. Б.М. Ворника. – К.: Семья, 1999. – 128с.
4. Населення України, 2004. Демографічний щорічник / Держ. комітет статистики України. – К., 2005. – 408с.
5. Жилка Н.Я. Стан репродуктивного здоров'я населення України // Матеріали наук.-практичної конференції «Актуальні питання підтримки репродуктивного здоров'я населення м. Києва». – К., 2006. – С.13-18.
6. Барцева О.Б. Цитогенетическое обследование супружеских пар в программе ЭКО / О.Б. Барцева, Г.А. Пулина, Е.В. Балашова [и др.] // Проблемы репродукции. – 1998. – №4. – С.37-38.
7. Ворсанова С.Г. Молекулярно-цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий у супружеских пар с нарушением репродуктивной функ-

- ции / С.Г. Ворсанова, А.К. Берешева, Л.З. Казанцева [и др.] // Проблемы репродукции. – 1998. – №4. – С.41-46.
8. Зерова Т.Е. Стандарти аналізу препаратів хромосом людини. Методичні рекомендації / Т.Е. Зерова, Н.Г. Горовенко – К., 2003. – 543с.
  9. Денисенко С.В. Генетика репродукции / С.В. Денисенко, А.С. Дарий, М.И. Кононенко, Т.Э. Зерова-Любимова. – К., 2008. – 650с.
  10. Зерова Т.Э. Значение FISH-метода для выявления «скрытого» мозаицизма по половым хромосомам у бесплодных супружеских пар / Т.Э. Зерова, М.И. Кононенко, А.С. Дарий, С.В. Денисенко // Проблемы репродукции. – 2005. – №5. – С.68-73.
  11. Савельева А.П. Частота нерасхождения хромосом в половых клетках пациентов с нарушением репродуктивной функции / А.П. Савельева, Л.Ф. Курило, Л.В. Шилейко [и др.] // Проблемы репродукции. – 2001. – №2. – С.73-78.
  12. Ковалева Н.В. Полиморфизм С – гетерохроматиновых районов хромосом в этиологии ануploидии у человека / Н.В. Ковалева, И.В. Бутомо, М.Н. Павлова, Л.Е. Хитрикова // Генетика. – 1993. – Т.29, №9. – С.112-115.
  13. Підгорна О.В. Особливості каріотипу подружніх пар з репродуктивними розладами різного походження: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.15 «Генетика» / Інститут гігієни та мед. екології ім. О.М. Марзєєва. – К., 2004. – 21с.
  14. Schreurs A. Increased frequency of chromosomal abnormalities in female partners of couples undergoings in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection / A. Schreurs, E. Legius, C. Meuleman [et al.] // Fertil. Steril. – 2000. – Vol.74, №1. – P.94-96.
  15. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия (теоретические и практические подходы) / Под ред. В.И. Кулакова, Б.В. Леонова. – 2-е изд., доп. – М.: Мед. информ. агентство, 2004. – 782с.
  16. Барцева О.Б. Цитогенетическое обследование супружеских пар в Программе ЭКО / О.Б. Барцева, Г.А. Пулина, Е.В. Балашова [и др.] // Проблемы репродукции. – 1998. – №4. – С.47-49.
  17. Калантари П. Хромосомное исследование мужского бесплодия / П. Калантари, Х. Сепхри, Ф. Бехьяти [и др.] // Генетика. – 2003. – №3. – Т.39. – С.423-426.
  18. Лівшиць Л.А. Роль мікрodelецій хромосомної ділянки Yq11 в розвитку необструктивних форм чоловічого безпліддя / Л.А. Лівшиць, О.А. Ясинська // Цитология и генетика. – 2002. – №5. – С.73-77.
  19. Федорова И.Д. Цитогенетический анализ сперматозоидов пациента с каріотипом 45,X/46,Xr(Y) методом внутрцитоплазматической инъек-

- ции в ооциты мыши / И.Д. Федорова, Т.В. Кузнецова, Ж. Ван де Елст [и др.] // Генетика. – 2005. – №10. – Т.41. – С.1400-1405.
20. McInnes Brenda Abnormalities for chromosomes 13 and 21 detected in spermatozoa from infertile men / Brenda McInnes, Alfred Rademaker, Calvin A. Green [et al.] // Human Reproduction. – 1998. – Vol.13, №10. – P.2787-2790.
  21. Строинская Г.А. Случай спутничной хромосомы 17 / Г.А. Строинская // Сб. научн. трудов «Современные проблемы в клинической цитогенетике». – М., 1991. – С.66.

**Євсеєнкова О.Г., Бришевац Л.І., Процюк Д.В., Подольська С.В., Сиренко В.Ю., Дахно Ф.В., Горовенко Н.Г. Роль застосування цитогенетичного дослідження та генетичного консультування при обстеженні подружніх пар з безпліддям, які звернулися до послуг допоміжних репродуктивних технологій.**

Проведено медико-генетичне консультування та цитогенетичне обстеження 270 пацієнтів репродуктивного віку (135 подружніх пар) з первинним та вторинним безпліддям. Серед пацієнтів з репродуктивними розладами різного походження хромосомні зміни виявлені у 52,6% обстежених. Хромосомні аномалії були виявлені у 14,4% пацієнтів, серед яких 89,19% жінок і 10,81% чоловіків. Отримані нами результати підтверджують необхідність проведення медико-генетичного консультування та застосування цитогенетичного аналізу на першому етапі обстеження чоловіків та жінок з безпліддям.

**Ключові слова:** безпліддя, медико-генетичне консультування, цитогенетичний метод, хромосомні аномалії.

**Євсеєнкова Е.Г., Бришевац Л.И., Процюк Д.В., Подольская С.В., Сиренко В.Ю., Дахно Ф.В., Горовенко Н.Г. Роль использования цитогенетического исследования и генетического консультирования при обследовании супружеских пар с бесплодием, которые обращались к вспомогательным репродуктивным технологиям.**

Проведено медико-генетическое консультирование и цитогенетическое обследование 270 пациентов репродуктивного возраста (135 супружеских пар) с первичным и вторичным бесплодием. Среди пациентов с репродуктивными расстройствами разного происхождения хромосомные изменения выявлены у 52,6% обследованных. Хромосомные аномалии выявлены у 14,4% пациентов, среди них 89,19% женщин и 10,81% мужчин. Полученные результаты подтверждают необходимость проведения медико-генетического консультирования и цитогенетического анализа на первом этапе обследования мужчин и женщин с бесплодием.



**Ключевые слова:** бесплодие, медико-генетическое консультирование, цитогенетический метод, хромосомные аномалии.

Ievseienkova O., Brishevac L., Protsyuk D., Podolskaya S., Sirenko V., Dakhno F., Gorovenko N. **The role of cytogenetic research and genetic consultation during the checkup of couples with infertility, which turned to assisted reproductive technologies.**

The conducted medical genetic advising and cytogenetic inspection 270 patients of reproductive age (135 matrimonial pair) with primary and second infertility. Among patients with reproductive disorders of different origin found out chromosomal changes in 52,6% inspected. Were found out chromosomal anomalies in 14,4% patients which 89,19% women and 10,81% men are among. The got results confirm the necessity of leadthrough medical genetic advising and application of cytogenetic analysis on the first stage of inspection of men and women with infertility.

**Key words:** infertility, medical genetic advising, cytogenetic method, chromosomal anomalies.

УДК 616.899.65-056.7-053.2-08-039.76

## **НОВЫЙ ПОДХОД К РЕАБИЛИТАЦИИ ДЕТЕЙ С СИНДРОМОМ ДАУНА**

**О.А.Ефремова, А.В.Христинич, Т.М.Ткачева**

*Харьковский специализированный медико-генетический центр,  
г. Харьков, Украина*

*Харьковский национальный медицинский университет,  
г. Харьков, Украина*

### **Актуальность темы**

Фолатный обмен является одним из ключевых биохимических циклов в организме. Процессы, происходящие в каскадном превращении фолатов, играют важную роль в функционировании ДНК, детоксикации генотоксических веществ, метаболизме женских половых гормонов и других биомолекул, требующих метилирования [1]. Метилирование ДНК играет важную роль в нормальных, а также аномальных клеточных функциях, участвует также в супрессии эндогенных ретровирусов, необратимой инактивации X хромосомы, геномном импринтинге и изменении хромосомной стабильности [1,

2]. Процесс метилирования протекает с участием ряда ферментативных систем и пищевых веществ, поставляющих кофакторы и субстраты. Экзогенные субстанции (пищевые продукты, химические вещества и металлы) могут играть роль в метилировании ДНК, экспрессии генов и проявлении болезней [2-4].

Основными генами, регулирующими фолатный обмен, являются гены метионинсинтазы (MTR), метионин-синтазы-редуктазы (MTRR) и 5,10-метилентетрагидрофолат-редуктазы (MTHFR). Для каждого из этих генов описаны несколько вариантов полиморфизмов, приводящих к усилению или ослаблению активности соответствующего фермента. Нарушение обмена фолатов приводит к повышению в крови уровня гомоцистеина – вещества, обладающего токсическим действием, и дефициту фолиевой кислоты [5, 6].

Метионин выполняет одну из наиболее важных функций в организме, выступая в качестве донора метильных групп (S-аденозилметионин). Однако нарушение процессов реметилирования (образования метионина из гомоцистеина), происходящее из-за дефицита ферментов MTHFR и MTRR приводит к развитию ряда патологических состояний, таких как атеросклерозы и атеротромбозы, дефект незаращения невральнoй трубки, неопластические процессы, нарушение расхождения хромосом в оогенезе и риск рождения детей с синдромом Дауна [7, 8].

**Целью исследования** было выявить влияние дефицита фолатного цикла на клинические проявления синдрома Дауна и разработать реабилитационные мероприятия с учетом генетической предрасположенности.

### **Материалы и методы исследования**

Материалом для исследования хромосомного набора пациентов служила периферическая кровь. Методом культивирования лимфоцитов были получены препараты хромосом, на которых было проведено кариотипирование с использованием методов дифференциальной окраски. Анализ хромосом проводился при помощи диагностической компьютерной системы фирмы ZEISS «Metasystems». За период с 2000 по 2008 г. с синдромом Дауна было выявлено 274 ребенка, из них мозаичная форма выявлена в 24 случаях, что составило 9%, транслокационная форма в 8 случаях (3%). С 2008 г. начато проведение молекулярно-генетических исследований полиморфизмов в