

*Валентина Владимировна МИХАЛЬЧУК —
врач-генетик высшей категории Тюменского
областного центра планирования семьи и
репродукции (ТОЦПСиР),*

*Вера Владимировна ХУДЯКОВА — врач-
цитогенетик высшей категории ТОЦПСиР,*

*Ирина Николаевна РЫКОВАНОВА —
студентка V курса
биологического факультета,*

*Людмила Сергеевна ТУПИЦЫНА —
доцент кафедры экологии и генетики,
кандидат биологических наук*

УДК 575.224.23: 599.9:57.08

СПЕКТР И ЧАСТОТА ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ У ЛЮДЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ, С ДИАГНОЗОМ РЕГРЕСС БЕРЕМЕННОСТИ

АННОТАЦИЯ. Изучены частота и спектр хромосомных нарушений у людей, проживающих в Тюменской области и имеющих диагноз «регресс беременности (неразвивающаяся беременность), а также в клетках abortного материала, полученного в случае указанного диагноза.

The frequency and spectrum of chromosome abnormalities for human who lived in Tyumen region with recurrent missed abortions was studied. Karyotyping of cells of spontaneous abortions (missed abortion) was carried.

Следствием стремительного ухудшения качества среды обитания человека и других видов живых организмов стало ускорение темпа мутационного процесса, увеличение «генетического груза» в популяциях [1].

Это определяет необходимость экологического мониторинга, в том числе эколого-генетического мониторинга популяций человека, задачей которого является слежение за состоянием генома. Система генетического мониторинга включает цитогенетический мониторинг, который предполагает оценку частоты хромосомных нарушений разного типа [2, 3].

Цитогенетический анализ широко используется как показатель нестабильности хромосомного аппарата у населения регионов с разным уровнем техногенной нагрузки. Многочисленные исследования выполнены с целью выявления частоты различных хромосомных нарушений у людей, проживающих в зонах повышенной радиационной нагрузки, жителей территорий с различной интенсивностью химического антропогенного загрязнения, в группах людей, профессионально связанных с различными генотоксикантами [4-8].

Данные о нарушениях хромосом накапливаются в цитогенетических лабораториях медицинского профиля, где выполняют кариотипирование людей из разных селективных групп: детей с врожденными пороками развития, родителей этих детей; с нарушениями физического, психического, полового развития; в семьях, в которых зафиксировано невынашивание беременности и т. д. [9-12].

Целью данной работы был цитогенетический мониторинг населения Тюменской области. Задачи работы заключались в выявлении спектра и частоты хромосомных нарушений у людей с диагнозом регресс беременности (неразвивающаяся-

ся беременность) и в клетках абортного материала, полученного в случае указанного диагноза.

Работа выполнена на базе медико-генетического отделения Тюменского областного центра планирования семьи и репродукции (ТОЦПСиР).

При диагнозе «регресс беременности» (неразвивающаяся беременность) пациентки направляются на искусственное прерывание беременности (медицинский аборт в первом триместре, до 12 недель). Мужчины и женщины (65% — жители города Тюмени, 25% — юга Тюменской области) в случае диагностированного регресса беременности (по отсутствию сердцебиения и движений плода, при использовании УЗИ-диагностики), сдавали венозную кровь для цитогенетического исследования. Абортный материал (ворсины хориона) для дальнейшего цитогенетического исследования помещали в культуральную среду. Из забранного материала готовили препараты хромосом методом кратковременного (24 часа) культивирования [13].

Анализ хромосомных препаратов проводили с использованием компьютерных систем анализа хромосом «Генетискан», «Кариовидеотест». Система содержит стандартное оборудование: оптический микроскоп AxioLab (Zeiss), малогабаритную TV-камеру axio cam hrc epson photo 890, источник бесперебойного питания, устройство оцифровки изображений, компьютер, принтер.

С 1997 по 2004 гг. было проведено кариотипирование 611 людей (325 женщин и 286 мужчин). При этом выявлено 23 случая хромосомных нарушений, что составило $3,76 \pm 0,77\%$ (табл. 1). Среди этих хромосомных нарушений встречаются числовые и структурные изменения, а также случаи мозаичных кариотипов. Показатель частоты структурных изменений хромосом составил $2,29 \pm 0,61\%$, что в 14 раз выше показателя частоты числовых нарушений ($0,16\%$). Из числовых нарушений встретился 1 случай трисомии по половым хромосомам — XXУ.

Таблица 1

Частота изменений разного типа в исследуемых группах (абсолютная частота/относительная частота, %)

Хромосомные нарушения	Взрослые	Абортусы
Гетероплоиды	$0,16 \pm 0,16/4,3$	$26,03 \pm 2,04/48,6$
Мозаики	$1,31 \pm 0,46/34,8$	$14,10 \pm 1,62/26,7$
Полиплоиды	$0,00 \pm 0,16/0,0$	$11,06 \pm 1,46/21,4$
Структурные aberrации	$2,29 \pm 0,61/60,9$	$1,74 \pm 0,61/3,3$

Среди структурных aberrаций у мужчин все случаи (3) — инверсии, касающиеся 9 хромосомы ($0,49 \pm 0,28\%$), в 2 из них изменения сопровождаются увеличением гетерохроматина в 16 хромосоме. У женщин с частотой $0,82 \pm 0,36\%$ также встречаются инверсии 9 хромосомы, с частотой $0,33 \pm 0,23\%$ — транслокации. В транслокации вовлечены 15 и 17, 8 и 20 хромосомы. Мозаицизм наблюдали только у женщин с частотой $1,31 \pm 0,46\%$. В патологических клонах встречаются анеуплоидия и триплоидия по X-хромосомам, а также клетки с сочетанием указанных аномалий.

Инверсию в 9 хромосоме считают одной из распространенных aberrаций, ассоциированных с первичным невынашиванием, субфертильностью и бесплодием [14-16], поэтому частота этой аномалии значима для характеристики репродуктивной функции человека и оценки генетического благополучия. Факт частого вовлечения в перестройки хромосомы 9 отмечают Ф. Фогель и А. Мотульски [17], для примера указывая на работу, выполненную в Финляндии. При анализе кариотипов 631 жителя этой страны по различным диагностическим поводам, в 6 случаях ($9,5\%$) была обнаружена перичентрическая инверсия в 9 хромосоме. В группе больных с врожденными пороками развития

и их родственников абсолютная частота носителей инверсии в хромосоме 9 составила 0,8%, относительная — 5,1% [9]. При анализе кариотипов 6205 человек в ТОЦПСИР с 1990 по 2003 гг. было выявлено 55 инверсий, 47 (85,5%) из них затронули хромосому 9.

С высокой частотой в нашей работе обнаружены случаи увеличения гетерохроматина 1 (0,33%), 9 (3,11%), 16 (0,65%), 17 (0,28%), а также увеличенные спутники 13 (0,82%), 21 (2,13%), 22 (0,98%) хромосом (табл. 2). Эти 2 типа изменений считают вариантами нормы и относят к индивидуальной изменчивости хромосом. Гетероморфизм особенно выражен в отношении размера спутничной области акроцентрических хромосом, длины Y-хромосомы, и «вторичных перетяжек» хромосом 1, 9 и 16 [13]. О фенотипическом проявлении увеличения спутников в литературе информации мало. Содержание структурного гетерохроматина С-типа особенно сильно варьирует в аутосомах 1, 4, 9, 13-16, 21, 22, Y-хромосоме [18]. Именно гетерохроматину, и в первую очередь, входящей в его состав сателлитной ДНК, приписывают роль регулятора скорости клеточного деления и роста [19]. Выявлена тенденция к увеличению гетерохроматиновых околоцентромерных районов хромосом 1, 9, 15 и Y у пациентов, проживающих в загрязненных радионуклидами районах [11].

Структура хромосомных нарушений при спонтанных абортах такова: трисомии составляют 40-50%, моносомия X — 15-25%, триплоидия около 15% и тетраплоидия около 5%. Трисомии описаны для всех хромосом, кроме 1 и Y. В 1/3-1/2 наблюдений имеет место трисомия 16-й хромосомы, на каждую из трисомий 2, 7, 13-15, 21 хромосом приходится от 5 до 10% [20]. Часть аномалий, такие как XO, встречаются среди абортусов и новорожденных, другие, например, триплоидия, почти всегда ведут к выкидышу, совместимы с рождением ребенка в исключительных случаях, третьи, такие как трисомия 16, можно обнаружить исключительно у абортированных плодов [21].

С возрастанием тяжести нарушения эмбрионального развития в ряду: собственно спонтанный аборт — неразвивающаяся беременность — анэмбриония, увеличивается частота аномалий кариотипов: 31,3-53,8-55,8% [22].

В период с 1998 по 2004 гг. авторами статьи проведен цитогенетический анализ 461 абортуса, полученных при регрессирующей беременности. У 53% из них выявлены хромосомные нарушения.

Среди абортусов мужского пола хромосомные нарушения встречаются с частотой $47,09 \pm 3,34\%$, среди абортусов женского пола — $58,40 \pm 3,19\%$. У абортусов мужского и женского пола преобладающими являются геномные мутации, а именно трисомии по всем аутосомам набора, исключая 11, 17, и 19 хромосомы. Часто выявляются трисомии по 2, 13, 16, 18-22 и X-хромосомам (рис. 1). С наибольшей частотой встречается анеуплоидия по X-хромосоме (8,9%), 13 (3,3%) и 16 (3,3%) хромосомам. По половым хромосомам отмечена моносомия XO, ее частота составила $15,13 \pm 2,32\%$, полисомии по X- (0,89±0,63%) и Y-хромосомам (0,45%). Среди абортусов женского пола велика доля моносомии по X-хромосоме, мужского — трисомии по 21 хромосоме. Обращает на себя внимание существенная частота полиплоидных клеток у абортусов — $11,06 \pm 1,46\%$ (табл. 1). Относительная частота структурных аберраций в 20 раз меньше, чем у взрослых.

Мозаицизм в абортном материале встречается с частотой $14,10 \pm 1,66\%$; $10,31 \pm 2,0\%$ у плодов мужского пола и с частотой $17,65 \pm 2,47\%$ — у плодов женского пола (табл. 1); относительный вклад мозаичных вариантов равен 26,7%. Среди мозаичных вариантов кариотипов преобладают наборы с нормальной и трисомной линиями клеток. Причина их появления — в митотических мутациях (нерасхождение хромосом) на ранних этапах эмбрионального развития. Соотношение дисомных и трисомных клеток зависит, в том числе, и от того, является ли

зигота дисомной или трисомной. Если зигота является хромосомно нормальной, то в результате нерасхождения на постзиготических стадиях будут возникать клетки с моносомией аутосом, как правило, нежизнеспособные, в дальнейшем в организме будет 2 клон клеток — с нормальным набором и трисомией [23]. Следовательно, частота мозаицизма может указывать на уровень внешнесредовых факторов в период эмбриогенеза, что существенно с позиций экологического мониторинга. Суммарная частота цитогенетических нарушений абортусов одинакова в Тюменской (наши данные) и Томской [22] областях. Сходной является и частота нарушений по ряду позиций спектра: числу моносомий и трисомий аутосом, триплоидии, аббераций хромосомом. Но имеются и различия двух выборок. В Тюмени реже встречается тетраплоидия, но выше доля гетероплоидии по половым хромосомам.

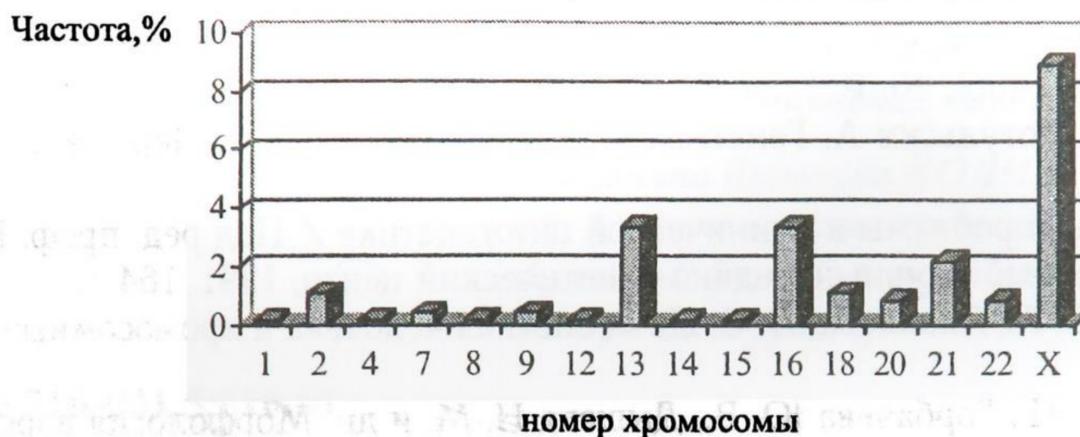


Рис. 1. Относительная частота гетероплоидии по разным хромосомам в абортном материале

Таким образом, частота цитогенетических нарушений при регрессе беременности существенна, а следовательно, названная селективная группа (к тому же в силу своего четко обозначенного статуса) перспективна в плане экологического мониторинга популяций людей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гинтер Е. К., Милишников А. Н. Рецензия на книгу Ю. П. Алтухова «Генетические процессы в популяциях» // Генетика. 2003. Т. 39. № 10. С. 1434-1437.
2. Бочков Н. П. Генетический мониторинг популяций человека в связи с загрязнением среды // Цитология и генетика. 1977. Т. XI. № 3. С. 195-206.
3. Бочков Н. П., Чеботарев А. Н., Катосова Л. Д., Платонова В. И. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных аббераций в культуре лимфоцитов периферической крови человека // Вестник Рос. Академии мед. наук. 2001. № 2. С. 21-29.
4. Буторина А. К., Калаев В. Н., Карпова С. С. Цитогенетические нарушения в соматических клетках человека и березы повислой в районах г. Воронежа с различной интенсивностью антропогенного загрязнения // Экология. 2002. № 6. С. 438-441.
5. Laffon B., Pasaro E., Mendez J. Evaluation of genotoxic effects in a group of workers exposed to low levels of styrene // Toxicology. 2002. V. 171. № 2-3. P. 175-186.
6. Zeljezig D., Garaj-Vrhovak V. Sister chromatid exchange and proliferative rate index in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides // Chemosphere. 2002. V. 46. № 2. P. 295-303.
7. Милошевич-Джорджевич О., Груйич Д., Арсеньевич С., Маринович Д. Частота микроядер у новорожденных из Крагуеваца Центральной Сербии после бомбардировок НАТО весной 1999 г. // Экология. 2004. № 6. С. 473-476.
8. Назаренко С. А., Попова Н. А., Назаренко Л. П., Пузырев В. П. Ядерно-химическое производство и генетическое здоровье. Томск: Печатная мануфактура, 2004. 272 с.
9. Tetsuji K., Ichiro T., Suzue K. A chromosome study on the 751 cases of the congenital defectives and their relatives // Proc. Jap. Acad. 1985. V. 61. № 9. P. 447-450.
10. Антоненко В. Г., Солониченко В. Г., Лукина Л. И. и др. Опыт работы врача-цитогенетика в перинатальном кардиологическом центре // Педиатрия. 1998. № 4. С. 74-76.

11. Ворсанова С. Г., Берешева А. К., Николаева Е. А. и др. Цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое исследование специфических хромосомных аномалий и вариантов у детей, проживающих в загрязненных по радиоактивному цезию (^{137}Cs) в районах Российской Федерации после аварии на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС) // Сибирский экологический журнал. 2000. № 1. С. 79-84.
12. Прозорова М. В., Шандлоренко С. К. Анализ работы цитогенетической лаборатории медико-генетического центра. В сб.: Медико-генетическая служба Санкт-Петербурга (к 35-летию медико-генетического центра). СПб.: ГУЗ МГЦ, 2004. С. 30-34.
13. Захаров А. Ф., Бенюш В. А., Кулешов Н. П., Барановская Л. И. Хромосомы человека (Атлас) АМН СССР. М: Медицина, 1982. 264 с.
14. Skarina R., Anichini C., Vivarelli R. et al. Correlation of the clinical phenotype with a pericentric inversion of chromosome // *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 1992. V. 68. № 3. P. 175-181.
15. Teo S. H., Tan M., Knight L. et al. Pericentric inversion 9-incidence and clinical significance // *Ann. Acad. Med. Singapore.* 1995. V. 24. № 2. P. 302-304.
16. Van Asshe E., Bonduelle M., Tourna H. et al. Cytogenetics of infertilemen // *Hum. Reprod.* 1996. № 11. suppl. 40. P. 1-24.
17. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. В 3-х т. Т. 1. Пер с англ. М.: Мир, 1989. 312 с.
18. Современные проблемы в клинической цитогенетике / Под ред. проф. Н. П. Кулешова. М.: Всесоюзный научный медико-генетический центр, 1991. 164 с.
19. Назаренко С. А., Яковлева Ю. С. Цитогенетика человека и хромосомные болезни. Томск: 2001. 84 с.
20. Волощук И. Н., Горбачева Ю. В., Дышева Н. М. и др. Морфология ворсинчатого хориона при спонтанных абортах с хромосомными аномалиями // *Медицинская генетика.* 2002. Т. 1. № 1. С. 38-41.
21. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. В 3-х т. Т. 2. Пер с англ. М.: Мир, 1990. 378 с.
22. Назаренко С. А., Суханова Н. Н., Лебедев И. Н. и др. Структура хромосомных нарушений у 552 спонтанных абортусов томской популяции // *Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / Под ред. В. П. Пузырева, А. Б. Масленникова.* Вып. 7. Новосибирск: Альфа Виста. 2005. С. 158-165.
23. Лебедев И. Н., Назаренко С. А. Тканеспецифичный плацентарный мозаицизм по аутосомным трисомиям у спонтанных абортусов человека: механизмы формирования и фенотипические эффекты // *Генетика.* 2001. Т. 37. № 11. С. 1459-1474.