



УДК 612.663.52:575.224.23

В. М. Запорожан, Р. В. Соколов, В. М. Боброва

## ХРОМОСОМНА НЕСТАБІЛЬНІСТЬ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ЖІНОК З МУЛЬТИФАКТОРІАЛЬНОЮ БЕЗПЛІДНІСТЮ

Одеський державний медичний університет

Порушення структури хромосом та їх кількості часто є причиною жіночої безплідності [1]. Хромосомні аномалії виявляють у 13,1 % обстежених пацієнтів, які мають різні порушення репродуктивної функції [2]. Нарівні з хромосомними аномаліями спадкового походження при цитогенетичному дослідженні пацієнтів з безплідністю часто виявляється хромосомна нестабільність [3; 4]. Причини хромосомної нестабільності можуть бути різні; разом із впливом зовнішніх факторів (мутагени, інфекції тощо) значним є внесок системних захворювань (синдроми хромосомної нестабільності, аутоімунні, онкологічні захворювання) [5–7]. Мультифакторіальна безплідність включає: порушення гіпоталамо-гіпофізарної регуляції функції яєчників, гіперплазію та поліпоз ендометрія, доброякісні пухлини яєчників, спайковий процес органів малого таза, імунологічні фактори [8].

Безплідність часто супроводжує синдроми хромосомної нестабільності [9; 10]. Це генетичні захворювання, які характеризуються високим рівнем спонтанних хроматидних розривів і хромосомних перебудов і схильністю до злякисних новоутворень; при цих захворю-

ваннях виявляються мутації в генах хеліказ і в онкогенах (анемія Фанконі, атаксія-телеангіоектазія, синдром Блума тощо) [11]. Усі ці синдроми є рідкісними автосомно-рецесивними захворюваннями, але гетерозиготні носії мутантних генів часто трапляються в популяції. При атаксії-телеангіоектазії гетерозиготи становлять близько 1 %, у родичів хворих на атаксію-телеангіоектазію ризик утворення злякисних пухлин підвищується. Безплідність також пов'язана з аутоімунним оофоритом, аутоімунними гіпофізитами тощо. Так, системний червоний вовчак призводить у 25 % випадків до викиднів (часто на ранніх термінах), які можуть бути непоміченими [12].

Таким чином, до патогенезу мультифакторіальної безплідності можуть бути зараховані вищеперелічені захворювання, які супроводжуються хромосомною нестабільністю лімфоцитів периферичної крові.

Мета дослідження — вивчення спонтанних хромосомних аберацій лімфоцитів периферичної крові пацієнок з мультифакторіальною і трубною безплідністю, а також порівняльний аналіз хромосомних аберацій лімфоцитів периферичної крові обстежених пацієнтів.

### Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для досліджень були лімфоцити периферичної крові 232 жінок з мультифакторіальною безплідністю (МБ), 80 жінок з безплідністю трубного генезу (ТБ) і 96 здорових жінок дітородного віку. В усіх обстежених пацієнок було зібрано анамнез, який включав дані про контакт пацієнтки з мутагенами різного походження протягом життя, а також клінічні відомості. Усіх пацієнок обстежено на наявність TORCH-інфекцій, проведено дослідження рівнів статевих гормонів, гормонів щитоподібної залози і надниркових залоз у крові. На момент цитогенетичного дослідження усі пацієнтки мали негативні тести на TORCH-інфекції і нормальні рівні гормонів щитоподібної залози. Жінки заперечували свідомий контакт з мутагенами.

Для культивування лімфоцитів периферичної крові використовували напівмікрометод з модифікаціями, запровадженими в науковій лабораторії НДІ нових медичних технологій і проблемних захворювань при Одеському державному медичному університеті [13]. Забарвлення препаратів здійснювали



диференційовано за G-методом. Хромосомний аналіз проводили на системі каріотипування Metasystems (Німеччина) з використанням програми "Ikaros". Було проаналізовано не менш як 50 метафазних пластинок для кожної пацієнтки. Аналіз хромосом лімфоцитів складався з підрахунку кількості хромосом у метафазних пластинках, ідентифікації хромосом, встановлення частоти абераційних клітин (у відсотках до загальної кількості досліджених метафаз), характеристики аберацій хромосом. Враховували хроматидні та хромосомні аберації, а також анеуплоїдні клітини. Отримані показники піддавали статистичній обробці, вірогідними вважалися розбіжності при  $P < 0,05$ .

### Результати дослідження та їх обговорення

Усі обстежені пацієнтки мали нормальний жіночий каріотип 44, XX. У таблиці наведено дані досліджень хромосомних аберацій лімфоцитів периферичної крові. Як бачимо, у пацієнток із ТБ середня кількість абераційних клітин становила  $(7,2 \pm 0,4) \%$ , а в контролі (фертильні жінки) —  $(2,8 \pm 0,3) \%$  (максимальний рівень абераційних клітин у популяції здорових людей — 3 %) [14]. Середня кількість абераційних лімфоцитів у пацієнток із МБ дорівнювала  $(18,5 \pm 0,9) \%$ , що значно перевищує максимальний рівень частоти аберацій хромосом у популяції, і була вірогідно вище ( $P < 0,05$ ) порівняно із середніми значеннями в наших контрольних дослідженнях. У пацієнток з МБ хромосомні аберації

представлені здебільшого анеуплоїдними клітинами (11,9 %) й абераціями хромосомного типу (4,1 %), аберації хроматидного типу становлять 2,5 %.

Анеуплоїдні клітини, що виявляються у пацієнтів з МБ, часто мали надчисельні маркерні хромосоми (рис. 1). Аберації хроматидного типу були представлені ахроматиновими пропусками і хроматидними розривами (рис. 2). Аберації хромосомного типу, в цій же групі пацієнток склалися в основному з дицентриків і міжхромосомних обмінів. У пацієнток із ТБ хромосомні аберації представлені тільки анеуплоїдними клітинами, які не мали в своєму складі надчисельних маркерних хромосом. У здорових жінок анеуплоїдні клітини становили 0,8 % усіх досліджених клітин, аберації хроматидного типу виявлялися у 2 % досліджених клітин; аберації хромосомного типу не траплялися. Аберації хроматидного типу були представлені хроматидними розривами.

Дослідження хромосомної нестабільності при безплідності нечисленні [2–3]. У роботах, присвячених дослідженню подружніх пар з безплідністю і спонтанними викиднями, вказується на незначний відсоток (3 %) пацієнтів з хромосомною нестабільністю [3]. З нашої точки зору, велику роль відіграє вибірка, а саме пацієнтки з МБ. У нашому дослідженні виключено вплив інфекцій, мутагенів і захворювань щитоподібної залози. Аналізуючи дані літератури стосовно причин виник-

нення хромосомної нестабільності, можна зробити припущення, що частина пацієнтів з МБ і хромосомною нестабільністю може страждати на аутоімунні, онкологічні захворювання, а також бути гетерозиготними носіями будь-якого з синдромів хромосомної нестабільності.

Підставою для такого припущення є те, що багато аутоімунних захворювань і синдромів хромосомної нестабільності беруть участь у патогенезі безплідності [6; 11]. Як свідчать дослідження останніх років, у патогенезі синдромів хромосомної нестабільності беруть участь багато онкогенів (p53, BRCA1, BRCA2 та ін.). Не виключено, що частина наших пацієнток із МБ є носіями мутацій в онкогенах, які залучені до спадкових форм раку. Підвищений рівень хромосомних аберацій лімфоцитів периферичної крові в онкологічних хворих вивчається давно. В нашій роботі [15] при цитогенетичному дослідженні лімфоцитів периферичної крові хворих на рак ендометрія встановлено вірогідне збільшення частоти хромосомних аберацій (до 20,5 %), порівняно з контролем (3 %). Можливо, подальші дослідження родоходів цих пацієнток дозволять отримати більше інформації.

Таким чином, аналіз аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові пацієнток із МБ показав вірогідне збільшення ( $P < 0,05$ ) частоти абераційних клітин (до  $18,5 \pm 0,9 \%$ ) порівняно з пацієнтками з ТБ ( $7,2 \pm 0,4 \%$ ) і практично здоровими жінками ( $2,8 \pm 0,3 \%$ ). У пацієнток із МБ

Таблиця

Частота і типи хромосомних аберацій лімфоцитів периферичної крові в різних групах обстежених жінок

Діагноз	Частота хромосомних аберацій, %	Аберації хроматидного типу, %	Аберації хромосомного типу, %	Анеуплоїдія, %
Мультифакторіальна безплідність	$18,5 \pm 0,9$	$2,5 \pm 0,3$	$4,1 \pm 0,2$	$11,9 \pm 0,5$
Трубна безплідність	$7,2 \pm 0,4$	0	0	$7,2 \pm 0,4$
Фертильні жінки	$2,8 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,25$	0	$0,8 \pm 0,15$



найчастіше виявлялися анеуплоїдні клітини з надчисельними маркерними хромосомами та аберації хромосомного типу (дицентрики і міжхромосомні обміни).

На наш погляд, під час вивчення причин хромосомної нестабільності у безплідних пацієнток особливу увагу треба приділити автоімунним захворюванням, синдромам хромосомної нестабільності і спадковим онкологічним синдромам, оскільки, по-перше, безсумнівним є внесок автоімунних захворювань у патогенез МБ, по-друге, гени синдромів хромосомної нестабільності, які є рідкісними автосомно-рецесивними захворюваннями, набули значного розповсюдження в популяції у гетерозиготному стані і можуть призводити до безплідності.

Хромосомна нестабільність у жінок із МБ швидше за все є наслідком порушення функцій імунної, ендокринної та репаративної систем, її можна розглядати як цитогенетичний маркер при мультифакторіальній безплідності.

### Висновки

1. У жінок з мультифакторіальною безплідністю спостерігається вірогідне збільшення кількості аберантних лімфоцитів ( $18,5 \pm 0,9\%$ ) порівняно зі здоровими жінками ( $2,8 \pm 0,3\%$ ) і з жінками з трубною безплідністю ( $7,2 \pm 0,4\%$ ).

2. У пацієнток з мультифакторіальною безплідністю найчастіше виявлялися анеуплоїдні клітини ( $11,9\%$ ) і аберації хромосомного типу ( $4,1\%$ ).

3. Хромосомна нестабільність у безплідних жінок може бути цитогенетичним маркером мультифакторіальної безплідності.

4. Найбільш перспективним напрямком досліджень слід вважати вивчення хромосомних аберацій, які найчастіше виявляються при мультифакторіальній безплідності, і визначення критеріїв диферен-

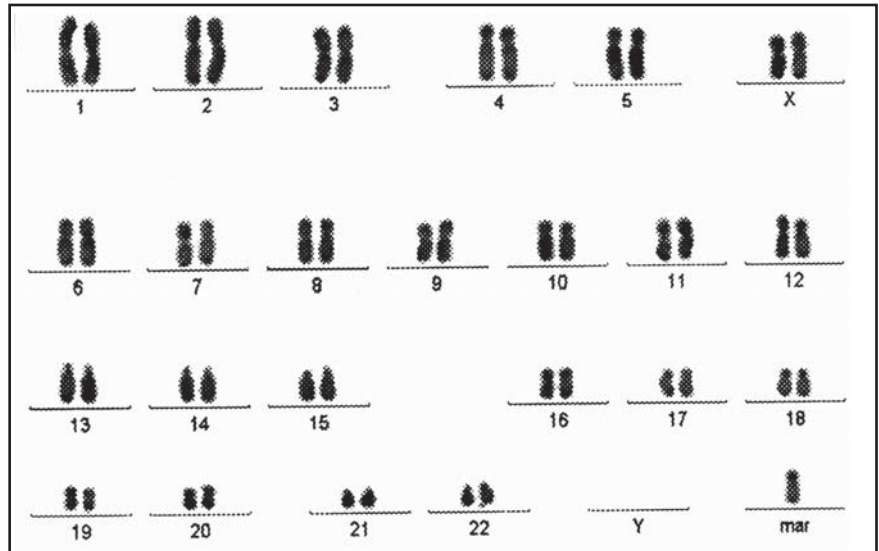


Рис. 1. Каріотип лімфоцитів периферичної крові пацієнтки з мультифакторіальною безплідністю — 44,XX;+mar; одинична аберантна клітина з надчисельною маркерною хромосомою

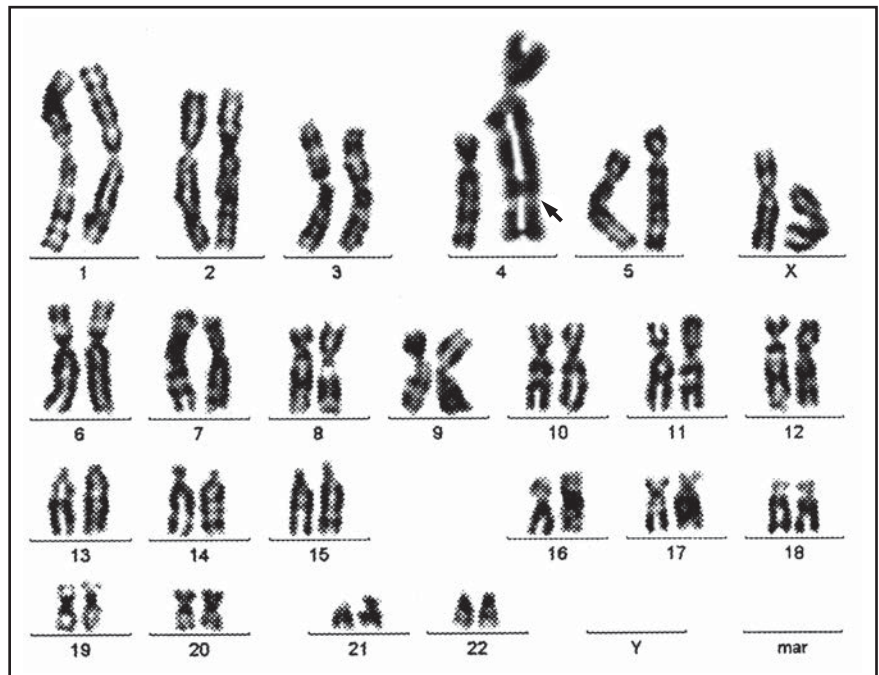


Рис. 2. Каріотип лімфоцитів периферичної крові пацієнтки з мультифакторіальною безплідністю (44,XX). Стрілкою показані ахроматинні пропуски в 4-й хромосомі

ційної діагностики цієї форми безплідності.

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberration in woman and men* / J. Gekas, F. Thepot, C. Turleau et al. // *Human Reprod.* — 2001. — Vol. 16. — N 1. — P. 82-90.

2. *Type and frequency of chromosome aberration in 781 couples undergoing intercytoplasmic sperm in-*

*jection* / B. Pechka, J. Leygraaf, K. V. D. Ven et al. // *Human Reproduction.* — 1999. — Vol. 14, N 9. — P. 2257-2263.

3. *Молекулярно-цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий у супружеских пар с нарушением репродуктивной функции* / С. Г. Ворсанова, А. К. Берешева, Л. З. Казанцева и др. // *Проблемы репродукции.* — 1998. — № 4. — С. 41-46.

4. *Zaporozhan V. N., Sobolev R. V. Genetic factors of female infertility* // *Biotechnology of human reproduction.*



— London: Partenon Publishing Group, 2003. — P. 261-277.

5. Бенникова Е. А., Бужиевская Т. И., Сильванская Т. М. Генетика эндокринных заболеваний. — К.: Наук. думка, 1993.

6. Фролов А. К. Иммуноцитогенетика. — М.: Медицина, 1993. — С. 67.

7. Increased chromosomal instability in peripheral lymphocytes and risk of human gliomas / R. L. Zein, M. L. Bondy, L. E. Wang et al. // *Carcinogenesis*. — 1999. — Vol. 20. — N 5. — P. 811-815.

8. Запорожан В. М., Соболев Р. В. Основні компоненти мультифакторіальної безплідності у жінок // Педіатрія, акушерство та гінекологія. — 2003. — № 1. — С. 101-103.

9. Bloom's syndrome protein, BLM, colocalizes with replication protein A in meiotic prophase nuclei of mammalian spermatocytes / D. Walpita, A. W. Plug, N. F. Neff et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1999. — Vol. 96 (10). — P. 5622-5627.

10. Chromosomal instability in a woman with infertility and two unaffected brothers: a new familial chromosomal breakage syndrome? / H. C. Duba, H. G. Weirich, H. Weirich-Schwaiger et al. // *Hum. Genet.* — 1997. — Vol. 100 (3-4). — P. 431-440.

11. Duker N. J. Chromosome breakage syndromes and cancer // *Am. J. Med. Genet.* — 2002. — Vol. 115 (3). — P. 125-129.

12. Rote N. S., Stetzer B. P. Auto-

immune disease as a cause of reproductive failure // *Clin. Lab. Med.* — 2003. — Vol. 23 (2). — P. 265-293.

13. Медицинские лабораторные технологии / Под ред. А. И. Карпищенко. — СПб., 1999. — 407 с.

14. Хромосомы человека (Атлас) / А. В. Захаров, В. А. Бенюш, Н. П. Кулешов, Л. И. Барановская. — М.: Медицина, 1982. — 283 с.

15. Запорожан В. Н., Бубнов В. В., Боброва В. Н. Цитогенетическое исследование лимфоцитов периферической крови больных раком эндометрия // III науч.-практ. конф. «Проблемы онкогенетики: научові та прикладні аспекти», 23–24 травня 2002 р. — С. 18-19.

УДК 618.173

П. М. Баскаков, І. Б. Глазкова

## КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ УРОГЕНІТАЛЬНИХ РОЗЛАДІВ ПРИ КЛІМАКТЕРИЧНОМУ СИНДРОМІ

Кримський державний медичний університет ім. С. І. Георгієвського

### Вступ

У зв'язку зі збільшенням тривалості життя в сучасному суспільстві зріс інтерес до проблем здоров'я жінок старшої вікової групи. Встановлено, що універсальними «маркерами» естрогенного дефіциту, що розвивається в клімактерії, є не тільки вазомоторні порушення й емоційно-психічний дискомфорт, характерні для перименопаузи, але й атрофічні зміни в уrogenітальному тракті: атрофічний вагініт, цистоуретрит, порушення контролю сечовипускання [1; 3].

В останні роки проблемі уrogenітальної атрофії приділяється велика увага, що зумовлено яскраво вираженим негативним впливом уrogenітальних розладів на якість життя жінок у клімактерії й очікуваним збільшенням найближчим часом кількості жінок, що страждають на ці розлади [1–4].

Незважаючи на той факт, що багато наукових колективів нашої країни і за її межами працюють у даному науковому напрямку, не можна вважати всі питання цілком вирішеними. На нашу думку, у першу чергу це стосується можливості корекції уrogenітальних і клімактеричних порушень з використанням сучасних медикаментозних засобів.

Усе вищевикладене є досить переконливою підставою для проведення цього наукового дослідження.

Метою роботи стало вивчення клінічних особливостей уrogenітальних і клімактеричних порушень, а також їхній взаємозв'язок між собою.

### Матеріали та методи дослідження

Відповідно до поставленої мети нами було обстежено 150 жінок, поділених на дві групи: перша група — 50 жінок з уро-

генітальними і клімактеричними розладами та контрольна група — 50 жінок такого ж віку без уrogenітальних розладів при патологічному клімактеричному синдромі. Усі жінки першої групи висловлювали специфічні скарги: сухість, сверблячка в піхві, диспареунія, рецидивні вагінальні виділення, часті болісні сечовипускання вдень і вночі, нетримання сечі при напруженні, нетримання сечі.

До комплексу клінічного обстеження було включено: вивчення особливостей анамнезу, тривалість захворювання, наявність супровідної соматичної захворюваності; оцінка менопаузального індексу; загальний огляд: визначення індексу маси тіла, індексу об'єму талія/стегна, ступеня оволошіння, оцінка сухості шкіри і слизових оболонок та об'єктивне гінекологічне обстеження: оцінка сухості слизової оболонки піхви, ступеня диспареунії, огляд у

