

ГУЛЕЮК Н. Л.¹, ЗАСТАВНА Д. В.^{1,2}, ТИРКА М.²¹ ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»,
Україна, 79008, м. Львів, вул. М. Лисенка, 31а, e-mail: root@ihp.lviv.ua² Жешівська Політехніка ім. І. Лукасевича,

Польща, 35-959, м. Жешів, вул. Повстанців Варшави, 6, e-mail: mtyrka@prz.edu.pl

✉ huleyuk@yahoo.com, (095) 655-85-49

ДОВЖИНА ТЕЛОМЕР У ЖІНОК ІЗ РАННІМИ РЕПРОДУКТИВНИМИ ВТРАТАМИ

Мета. Вивчення відносної довжини теломер у жінок із ранніми репродуктивними втратами в анамнезі. **Методи.** Відносну довжину теломер (Relative Telomere Length, RTL) вивчали в лімфоцитах периферійної крові за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (RT-PCR). **Результати.** RTL вивчили у 281 жінки, серед котрих 169 – із ранніми репродуктивними втратами (РРВ) (обстежувана група) та 112 – мають здорових дітей та без репродуктивних втрат в анамнезі (контрольна група). У жінок віком до 35-ти років середнє значення RTL є вірогідно вищим від аналогічного показника жінок старшого віку, $P=0,003597$. У жінок із РРВ величина RTL є вірогідно меншою від аналогічного показника у жінок зі збереженою репродуктивною функцією, $P=0,0000001$. Значення RTL є вірогідно нижчим у жінок із РРВ віком до 35-ти років порівняно з контролем, $P=0,0000001$, та є наближеним до показника RTL у жінок контрольної групи віком від 36-ти років, $P>0,05$. **Висновки.** Довжина теломер є суттєво меншою як у жінок старшого віку, так і у жінок із ранніми репродуктивними втратами. Наближеність показників відносної довжини теломер у жінок із РРВ віком до 35-ти років та у жінок зі збереженою репродуктивною функцією віком від 36-ти років свідчить на користь теломерної теорії репродуктивного старіння.

Ключові слова: теломери, RT-PCR, жінки, вік, ранні репродуктивні втрати.

За узагальненими даними, 15–20% клінічно діагностованих вагітностей закінчується мимовільним перериванням [1–4]. При цьому до 80 % мимовільних переривань припадає на перший триместр вагітності і окреслюються поняттям ранні репродуктивні втрати (РРВ) [2].

На фоні різнопланового вивчення можливих екзо- та ендогенних факторів ризику РРВ проблема залишається відкритою. В переліку

можливих маркерів мимовільної втрати вагітності на її ранніх періодах щораз частіше в науковій літературі обговорюється значення довжини теломерних ділянок хромосом за РРВ. Зокрема, короткі теломери характерні для ооцитів жінок із невдалими спробами допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) [4], фрагментацією ембріонів [5]. Показана пряма залежність між короткими теломерами в полярних тільцях та анеуплоїдією ембріонів, отриманих під час застосування ДРТ [6]. Запропонована навіть теломерна теорія репродуктивного старіння жінок [7, 8], яка пов'язує вікову дисфункцію ооцитів із прогресивним вкороченням теломер.

Термін «теломера» походить від грецьких слів «телос» – «кінець» та «мерос» – «частина». Цей термін вперше застосував у 1938 році американський генетик Герман Мюллер, який вивчав проблеми стабільності хромосом та каріотипу загалом на моделі *Drosophila melanogaster*. Він висунув припущення, що на кінцевій ділянці хромосоми знаходиться «термінальний ген», необхідний для її захисту, та назвав його теломерою [Цит. за: 9]. Теломери – еволюційно консервативні, поліфункціональні ДНК-білкові комплекси, розташовані на кінцях хромосом еукаріот. Це гетерохроматинові структури з некодуючою гексануклеотидною послідовністю 5'-TTAGGG-3', яка повторюється [10]. До складу теломери входить також теломерна РНК (TERRA, Telomeric Repeat-containing RNA). Теломера закінчується одноланцюговим 3'-кінцем, який містить від 30 до 600 п. н. [11]. Він скручений у так звану t-петлю, яка не дозволяє з'єднуватися кінцям хромосом. Одноланцюговий кінець теломери проникає в дволанцюгову ділянку, яка знаходиться біля t-петлі, та утворює D-петлю (displacement loop). Утворена структура закриває кінець хромосоми, що перешкоджає розпізнавання його як дволанцюгового розрив [12, 13]. Окрім ДНК та РНК, теломера містить спеціальний захисний протеїновий

комплекс shelterin, до якого входять 6 білків: TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1 та POT1 [12].

Довжина теломер – це комплексна ознака, що визначається різними локусами хромосом, віком, статтю, протіканням пре- та постнатального періоду життя людини, генотоксичним та оксидативним стресом [14]. Довжина теломер демонструє значну міжіндивідуальну варіабельність [15]. Збереження довжини теломер передбачає виняткове довголіття та здоров'я в старості, а також корелює з репродуктивною довговічністю [16–19]. Довжина теломер лейкоцитів, а також швидкість їх вкорочення вважаються біомаркерами процесу старіння [20, 21]. Старіння репродуктивної системи у жінок становить парадокс: соматичні тканини матки відновлюються протягом життя жінки, а яйцеклітини та її попередники, на противагу чоловічим статевим клітинам, зазнають передчасного і глибокого старіння. Під час старіння ооцитів відбувається зменшення кількості синапсів та хіазм хромосом, що виливається у мейотичне та мітотичне нерозходження хромосом, зупинку розвитку ембріона, фрагментацію, апоптоз та, як наслідок, втрату вагітності. Функція теломер є дуже важливою під час мейозу. Теломери при'язують хромосоми до мембрани ядра, що полегшує кон'югацію гомологів і ініціює синапси для формування хіазм [22, 23]. Нормальна сегрегація хромосом під час пізніх фаз мейозу у дорослої жінки залежить від хіазм, сформованих внутрішньоутробно. Цікаво зазначити, що вкорочення теломер прискорюється хронічним стресом. Зокрема, короткі теломери характерні для пацієнтів із розладами настрою та для песимістичних жінок [24]. Очевидно, що втрата вагітності є великим стресом для жінки, і це додатково мотивувало нас до необхідності вивчення довжини теломер як провокуючого фактора РРВ.

Тому метою пропонованого дослідження було вивчення відносної довжини теломер у жінок із ранніми репродуктивними втратами в анамнезі.

Матеріали і методи

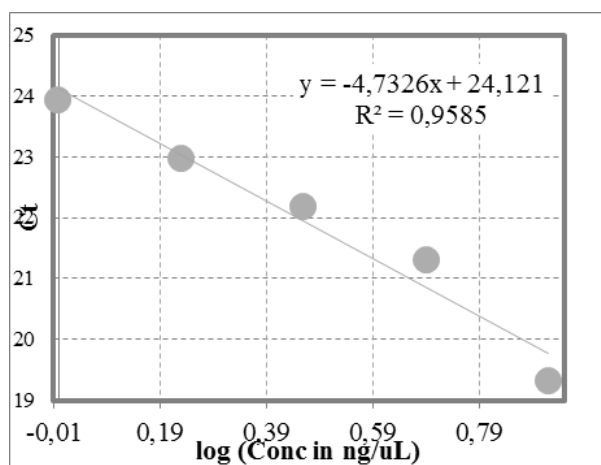
Відносну довжину теломер (Relative Telomere Length, RTL) вивчали в лімфоцитах периферійної крові. Забір венозної крові проводили у вакутейнери із ЕДТА. Виділення та очищення ДНК із цільної периферійної крові виконували методом висолювання [25] або ферментативного розщеплення та подальшої фенольної екстракції [26]. Густина ДНК вимірювали за

допомогою Qubit® 2.0 Fluorometer (ThermoFisher Scientific, Inc).

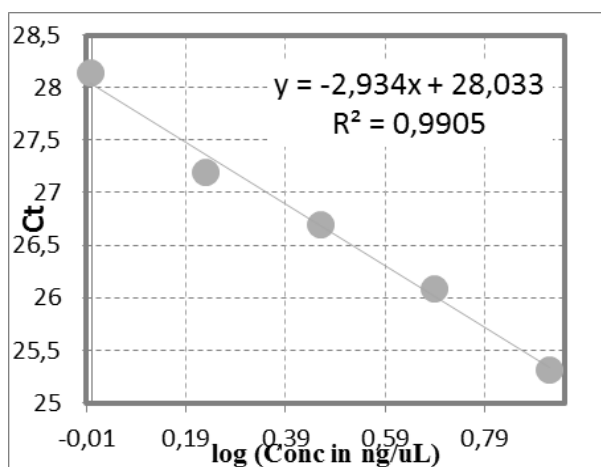
Для встановлення RTL використовували ПЦР з детекцією флюоресценції в реальному часі (RT-PCR). Реакції проводили на Eco Real-Time PCR System (Illumina, Inc) згідно з протоколом Sawthorn R.M., 2002 [27]. Для ампліфікації теломерних (T) послідовностей використовували такі праймери, синтезовані фірмою biomers.net GmbH: tel 1 GGTTTTTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGT; tel 2 TCCCGACTATCCCTSTCCSTATCCSTATCCCTATCCCTA. Для ампліфікації однокопійного (single copy gene, SCG) гена *36B4* використовували праймери 36B4u CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC; 36B4d CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA.

Референтна ДНК для стандартизації вимірювань була отримана з цільної крові двох здорових осіб (чоловіків та жінок). Чотири концентрації референтної ДНК, які охоплювали діапазон розведення від 0.63 до 5 нг/мкл з кроком розведення 1.68, використані в двох паралельних пробах – для реакції теломерних послідовностей (T) та окремо для однокопійного гена (S) (рис. 1). Дані, отримані під час аналізу референтної ДНК, були використані для встановлення калібрувальних кривих, необхідних для оцінки ефективності реакції та середньої довжини теломер. Відносний коефіцієнт числа копій теломерних повторів до числа копій гена *36B4* (співвідношення T/S) в експериментальних зразках порівнювали з референтним ДНК-зразком. Довжина теломер була виражена як відносне співвідношення T/S, виходячи з розрахунку $D_{Ct} [Ct(\text{теломера})/Ct(\text{однокопійний ген})]$, яке було нормалізовано до середнього співвідношення T/S референтного зразка. Для цього ми використовували програмне забезпечення Eco Real-Time PCR System v4.1.11.2. Це ж програмне забезпечення було використано для визначення кількості ДНК для нашого дослідження. До лунки в планшетці додавали 12 мкл реакційної суміші (GoTaq® qPCR Master Mix та праймерів) та 7 мкл (14 нг/об'єм) ДНК. Кінцеві концентрації праймерів для теломер складали: tel1 – 270 нМ та tel2 – 900 нМ, для однокопійного гена *36B4*: 36B4u – 300 нМ та 36B4d – 500 нМ. Всі зразки ДНК аналізували в трьох повторностях. Референтну ДНК включали в кожну планшету ПЛР. Коефіцієнт варіації (стандартне відхилення/середнє значення) розрахований як 0,89% для

вимірювань на планшеті та 0,7% для вимірювання між планшетами.



а)



б)

Рис. 1. Стандартні криві для обчислення відносної концентрації ДНК теломер (а) та однокопійного гена *36B4* (б).

Отримані криві ПЛР не відрізнялися від протоколу, описаного Sawthorn R.M., 2002 [27]. Для створення кривих для сигналу теломер (Т) або сигналу однокопійного гена (S) використовували програму Illumina Eco Software v4.1.11.2.

Гіпотеза нормального розподілу даних RTL не була відхилена (тест Шапіро-Вілка,

$p=0.00001$). Статистичні відмінності між середніми значеннями перевірені за використанням ANOVA та t-тесту за використанням програмного забезпечення Statistica 12 (StatSoft, Inc, США).

Результати та обговорення

Відносну довжину теломер (RTL) вивчили у 281 жінки, серед котрих 169 – із порушеннями репродуктивної функції, в анамнезі у яких спостерігали 1 і більше втрачених у першому триместрі вагітностей (обстежувана група), та 112 – мають здорових дітей і без репродуктивних втрат в анамнезі (контрольна група). Показники відносної довжини теломер у жінок із різним репродуктивним анамнезом та різного віку наведені у табл.

Середній показник RTL у загальній групі жінок (контрольна група + обстежувана група) становив 1.72 та характеризувався міжіндивідуальними коливаннями в межах 0.002–6.913. У групі з репродуктивними втратами (РВ) середній показник RTL склав 1.39 за міжіндивідуальних коливань від 0.03 до 6.54; у контрольній групі – 2.23 за міжіндивідуальних коливань від 0.002 до 6.913. Варіабельність довжини теломер між особами характерна для людської популяції [28–31], хоча короткі теломери є фактором ризику багатьох захворювань [32–35], асоційованих зі старінням. Варіабельність теломер може бути зумовлена відмінностями в довжині теломер під час зачаття, активністю теломерази під час раннього пренатального періоду розвитку, швидкістю поділу клітин і швидкістю втрати теломер за клітинного поділу.

Для встановлення кореляції між віком та RTL проаналізували отримані результати у жінок контрольної групи (рис. 2). У жінок віком до 35-ти років середнє значення RTL є вірогідно вищим від аналогічного показника жінок старшого віку – 2.35 ± 0.13 проти 1.37 ± 0.22 відповідно, $P=0.003597$. Аналогічну тенденцію спостерігали й інші дослідники [36].

Таблиця. Відносна довжина теломер у жінок різного віку

Вік, роки	Обстежувана група		Контрольна група	
	середнє значення, мін. – макс.	N	середнє значення, мін. – макс.	N
≤35	1,37 (0,03 – 4,07)	149	2,35 (0,002 – 6,91)	100
≥36	1,81 (0,23 – 6,54)	20	1,37 (0,69 – 3,59)	12
загалом	1,39 (0,03 – 6,54)	169	2,23 (0,002 – 6,91)	112

Примітки. *n – кількість обстежених осіб; мін. – мінімальне значення; макс. – максимальне значення.

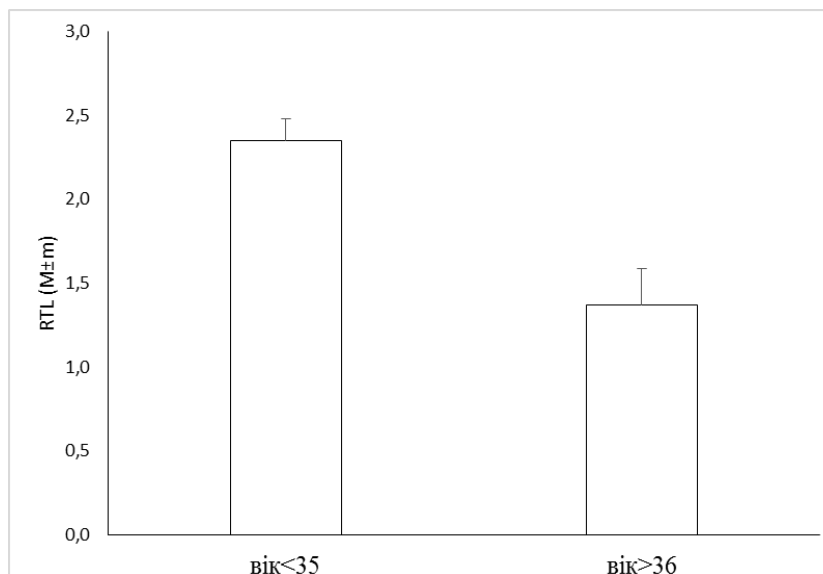


Рис. 2. Відносна довжина теломер (RTL) у жінок контрольної групи різного віку.

Встановлено, що у жінок із репродуктивними втратами величина RTL є вірогідно меншою від аналогічного показника в осіб зі збереженою репродуктивною функцією (1.39 ± 0.06 проти 2.23 ± 0.12 відповідно, $P=0.0000001$) (рис. 3). Аналогічні висновки викладені

Hanna C.W. et al., 2009 [36], які обстежували жінок із репродуктивними втратами, зокрема із навиковим невиношуванням вагітності.

У нашій вибірці жінок як із збереженою репродуктивною функцією, так і з РРВ доміну-

вали особи віком до 35-ти років (табл.). Як відомо, жінки саме цього віку репродуктивно активні в українській популяції. Тому порівняли показники RTL у жінок віком до 35-ти років залежно від репродуктивної функції (рис. 4). Відносна довжина теломер вірогідно нижча у жінок із РРВ порівняно з контролем – 1.37 ± 0.06 проти 2.35 ± 0.13 відповідно, $P=0.0000001$ та подібна до показника RTL у жінок контрольної групи віком від 36-ти років – 1.37 ± 0.22 , $P>0.05$.

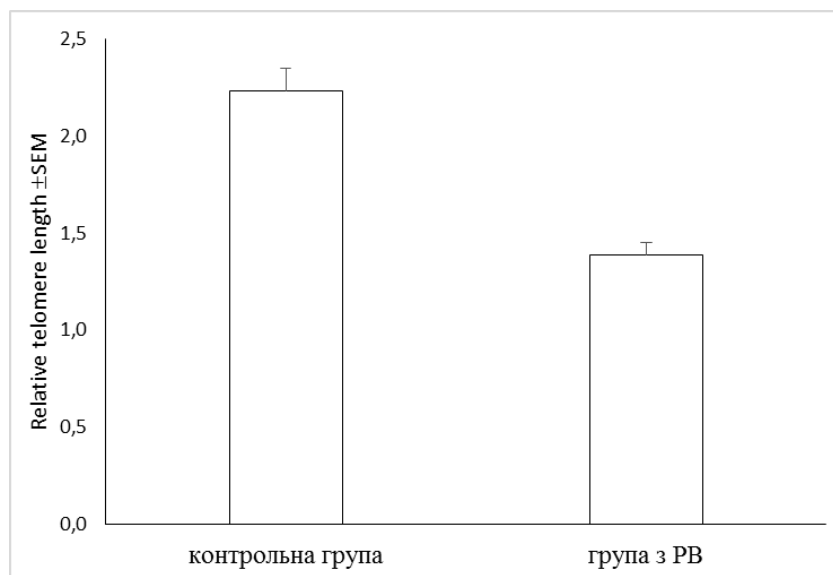


Рис. 3. RTL у жінок залежно від репродуктивного анамнезу. РВ – репродуктивні втрати.

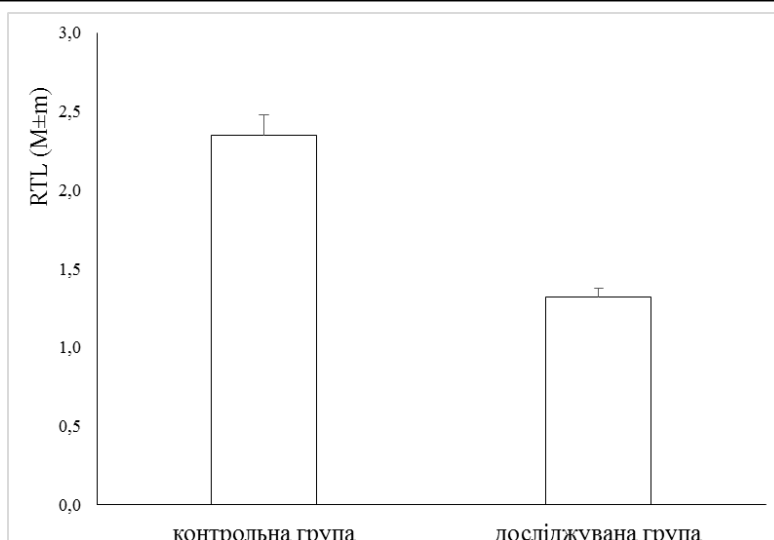


Рис. 4. Відносна довжина теломер у жінок віком до 35-ти років із різним репродуктивним анамнезом.

Висновки

Довжина теломер суттєво менша як у жінок старшого віку, так і у жінок із ранніми репродуктивними втратами. Подібність показників відносної довжини теломер у жінок із РРВ

віком до 35-ти років та у жінок зі збереженою репродуктивною функцією віком від 36-ти років свідчить на користь теломерної теорії репродуктивного старіння.

References

- Opitz J.M. The Farber lecture. Prenatal and perinatal death: the future of developmental pathology. *Pediatr Pathol*. 1987. Vol. 7. P. 363–394. PMID: 3444789.
- Gilmore D.H., McNay M.B. Spontaneous fetal loss rate in early pregnancy. *Lancet*. 1985. Vol. 12. P. 107. doi: 10.1016/S0140-6736(85)91997-X.
- Mills J.L., Simpson J.L., Driscoll S.G., Jovanovic-Peterson L., Van Allen M., Aarons J.H., Metzger B., Bieber F.R., Knopp R.H., Holmes L.B., Petersen C.M., Withiam-Wilson M., Brown Z., Ober C., Harley E., Macpherson T.A., Duckles A., Mueller-Heubach E. Incidence of spontaneous abortion among normal women and insulin-dependent diabetic women whose pregnancies were identified within 21 days of conception. *N Engl J Med*. 1988. Vol. 22. P. 1617–1623. doi: 10.1056/NEJM198812223192501.
- Keefe D.L., Liu L., Marquard K. Telomeres and aging-related meiotic dysfunction in women. *Cell Mol Life Sci*. 2007. Vol. 64. P. 139–143. PMID: 17219022.
- Keefe D.L., Franco S., Liu L., Trimarchi J., Cao B., Weitzen S., Agarwal S., Blasco M.A. Telomere length predicts embryo fragmentation after in vitro fertilization in women-toward a telomere theory of reproductive aging in women. *Am J Obstet Gynecol*. 2005. Vol. 192. P. 1256–1261. PMID: 15846215.
- Treff N.R., Su J., Taylor D., Scott R.T. Telomere DNA deficiency is associated with development of human embryonic aneuploidy. *PLoS Genet*. 2011. Vol. 7. e1002161. doi: 10.1371/journal.pgen.1002161.
- Keefe D.L., Marquard K., Liu L. The telomere theory of reproductive senescence in women. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2006. Vol. 18. P. 280–285. doi: 10.1097/01.gco.0000193019.05686.49.
- Keefe D.L., Liu L. Telomeres and reproductive aging. *Reprod Fertil Dev*. 2009. Vol. 21. P. 10–14. PMID: 19152740.
- Chan S.W., Blackburn E.H. Telomerase and ATM/Tel1p protect telomeres from nonhomologous end joining. *Mol Cell*. 2003. Vol. 11(5). P. 1379–87. PMID: 12769860.
- Zalenskaya I.A., Bradbury E.M., Zalensky A.O. Chromatin structure of telomere domain in human sperm. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000. Vol. 279 (1). P. 213–8. doi: 10.1006/bbrc.2000.3917.
- Riethman H. Human telomere structure and biology. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2008. Vol. 9. P. 1–19. doi: 10.1146/annurev.genom.8.021506.172017.
- de Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev*. 2005. Vol. 19 (18). P. 2100–2110. doi: 10.1101/gad.1346005.
- Hockemeyer D., Daniels J.P., Takai H., de Lange T. Recent expansion of the telomeric complex in rodents: Two distinct POT1 proteins protect mouse telomeres. *Cell*. 2006. Vol. 126 (1). P. 63–77. doi: 10.1016/j.cell.2006.04.044.
- Thilagavathi J., Venkatesh S., Dada R. Telomere length in reproduction. *Andrologia*. 2013. Vol. 45 (5). P. 289–304. doi: 10.1111/and.12008.
- Hastie N.D., Dempster M., Dunlop M.G., Thompson A.M., Green D.K., Allshire R.C. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature*. 1990. Vol. 346. P. 866–868. doi: 10.1038/346866a0.
- Snowdon D.A., Kane R.L., Beeson W.L., Burke G.L., Sprafka J.M., Potter J., Iso H., Jacobs D.R., Phillips R.L. Is early natural menopause a biologic marker of health and aging? *Am J Pub Health*. 1989. Vol. 79. P. 709–714. PMID: PMC1349628.

17. Cooper G.S., Sandler D.P. Age at natural menopause and mortality. *Ann Epidemiol.* 1998. Vol. 8. P. 229–235. pmid: 9590601.
18. Mondul A.M., Rodriguez C., Jacobs E.J., Calle E.E. Age at natural menopause and cause-specific mortality. *Am J Epidemiol.* 2005. Vol. 162. P. 1089–1097. doi: 10.1093/aje/kwi324.
19. Smith K.R., Gagnon A., Cawthon R.M., Mineau G.P., Mazan R., Desjardins B. Familial aggregation of survival and late female reproduction. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2009. Vol. 64. P. 740–744. doi: 10.1093/gerona/glp055.
20. Boccardi V., Esposito A., Rizzo M.R., Marfella R., Barbieri M., Paolisso G. Mediterranean diet, telomere maintenance and health status among elderly. *PLoS One.* 2013. Vol. 8. e62781. doi: 10.1371/journal.pone.0062781.
21. Armanios M. Telomeres and age-related disease: How telomere biology informs clinical paradigms. *J Clin Invest.* 2013. Vol. 123. P. 996–1002. doi: 10.1172/JCI66370.
22. Bass H.W., Riera-Lizarazu O., Ananiev E.V., Bordoli S.J., Rines H.W., Phillips R.L., Sedat J.W., Agard D.A., Cande W.Z. Evidence for the coincident initiation of homolog pairing and synapsis during the telomere-clustering (bouquet) stage of meiotic prophase. *J Cell Sci.* 2000. Vol. 113. P. 1033–1042. pmid: 10683151.
23. Scherthan H. Telomere attachment and clustering during meiosis. *Cell Mol Life Sci.* 2007. Vol. 64. P. 117–124. doi: 10.1007/s00018-006-6463-2.
24. Karabatsiakis A., Kolassa I.T., Kolassa S., Rudolph K.L., Dietrich D.E. Telomere shortening in leukocyte subpopulations in depression. *BMC Psychiatry.* 2014. Vol. 14. P. 192. doi: 10.1186/1471-244X-14-192.
25. Makukh H.V., Zastavna D.V., Tyrkus M.Ja., Tretjak B.I., Chorna L.B. Sposib vydilennia DNK z lejkocytiv periferijnoji krovii. Patent 32044 Ukraine. № u200801896; applied on 14.02.2008, published on 25.04.2008, bulletin № 8. [in Ukrainian] / Спосіб виділення ДНК з лейкоцитів периферійної крові. Патент 32044 Україна. № u200801896; заявл. 14.02.2008, опубл. 25.04.2008, Бюл. № 8.
26. Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J.K. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Moskva: Mir, 1985. 420 p.
27. Cawthon R.M. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucl Acids Res.* 2002. Vol. 30. e 47. pmid: 12000852.
28. Meyerson M. Role of telomerase in normal and cancer cells. *J Clin Oncol.* 2000. Vol. 18. P. 2626–2634. doi: 10.1200/JCO.2000.18.13.2626.
29. Morla M., Busquets X., Pons J., Saulea J., MacNee W., Agusti A.G. Telomere shortening in smokers with and without COPD. *Eur Respir J.* 2006. Vol. 27. P. 525–528. doi: 10.1183/09031936.06.00087005.
30. Samassekou O., Gadji M., Drouin R., Yan J. Sizing the ends: normal length of human telomeres. *Ann Anat.* 2010. Vol. 192. P. 284–291. doi: 10.1016/j.aanat.2010.07.005.
31. Pickett H.A., Reddel R.R. The role of telomere trimming in normal telomere length dynamics. *Cell Cycle.* 2012. Vol. 11. P. 1309–1315. doi: 10.4161/cc.19632.
32. Murillo-Ortiz B., Albarrón-Tamayo F., Arenas-Aranda D., Benítez-Bribiesca L., Malacara-Hernández J.M., Martínez-Garza S., Hernández-González M., Solorio S., Garay-Sevilla M.E., Mora-Villalpando C. Telomere length and type 2 diabetes in males, a premature aging syndrome. *Aging Male.* 2011. Vol. 15. P. 54–58. doi: 10.3109/13685538.2011.593658.
33. Fitzpatrick A.L., Kronmal R.A., Kimura M., Gardner J.P., Psaty B.M., Jenny N.S., Tracy R.P., Hardikar S., Aviv A. Leukocyte telomere length and mortality in the Cardiovascular Health Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2011. Vol. 66. P. 421–429. doi: 10.1093/gerona/glp224.
34. Martínez-Delgado B., Yanowsky K., Inglada-Perez L., Domingo S., Urioste M., Osorio A., Benítez J. Genetic anticipation is associated with telomere shortening in hereditary breast cancer. *PLoS Genet.* 2011. Vol. 7. e1002182. doi: 10.1371/journal.pgen.1002182.
35. Calado R.T., Young N.S. Telomere diseases. *N Engl J Med.* 2009. Vol. 361. P. 2353–2365. doi: 10.1056/NEJMra0903373.
36. Hanna C.W., Bretherick K.L., Gair J.L., Fluker M.R., Stephenson M.D., Robinson W.P. Telomere length and reproductive aging. *Hum Reprod.* 2009. Vol. 24 (5). P. 1206–1211. doi: 10.1093/humrep/dep007.

HULEYUK N. L.¹, ZASTAVNA D. V.¹, TYRKA M.²

№ Institute of Hereditary Pathology of Natl. Acad. Med. Sci. of Ukraine,
Ukraine. 79008, Lviv, M. Lysenko str., 31a, e-mail: root@ihp.lviv.ua

I Rzeszow University of Technology, Faculty of Chemistry, Department of Biotechnology and Bioinformatics,
Poland, 35-959, Rzeszow, Al. Powstacyw Warszawy, 6, e-mail: mtyrka@prz.edu.pl

TELOMERE LENGTHS IN WOMEN WITH EARLY REPRODUCTIVE LOSSES

Aim. Study of the relative telomere lengths in women with a history of early reproductive losses. **Methods.** Relative Telomere Length (RTL) was studied in the peripheral blood lymphocytes using a real time polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results.** RTL was studied in 281 women, among which 169 - with early reproductive losses (ERL) (surveyed group) and 112 - have healthy children and no reproductive losses in history (control group). For women under the age of 35, the average RTL value is significantly higher than that of older women, $P = 0.003597$. In women with ERL, RTL is significantly lower than that of women with a preserved reproductive function, $P = 0.0000001$. The value of RTL is significantly lower in women with ERL under 35 years compared with control, $P = 0.0000001$, and is similar to value of RTL in women in the control group at the age of 36, $P > 0.05$. **Conclusions.** The telomere lengths is significantly lower in both older women and women with ERL. The similarity of RTLvalue in women with ERL up to 35 years of age and in women with a preserved reproductive function at the age of 36 years testifies to the telomeric theory of reproductive aging.

Keywords: telomeres, RT-PCR, women, age, early reproductive loss.