

КОЧЕРГА З.Р.[✉], КОВАЛЬЧУК Л.Є.

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»,

Україна, 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2, e-mail: zoryanakocherha@gmail.com

✉ zoryanakocherha@gmail.com, (050) 964-71-48, (096) 733-32-38

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ НЕСТАБІЛЬНОСТІ ГЕНОМУ У НОВОНАРОДЖЕНИХ РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ РАЙОНІВ ІВАНО-ФРАНКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Мета. Встановлення частоти та спектра хромосомних аберацій, асоціацій акроцентричних хромосом у новонароджених із різних екологічних районів. **Методи.** Проаналізовано метафазні пластинки 187 новонароджених з різних екологічних районів та визначено частоту та спектр хромосомних аберацій, асоціацій акроцентричних хромосом. **Результати.** Отримані результати частоти асоціацій акроцентричних хромосом корелювали з показниками частоти хромосомних аберацій (r коливався від 0,68 до 0,84), що підтвердило негативний вплив екологічних умов проживання на імунотетичний статус та адаптивні можливості людини. **Висновки.** Встановлено, що у новонароджених із районів екологічного комфорту загальна кількість хромосомних аберацій була нижчою порівняно з такою у немовлят із територій із хімічним і радіаційним забрудненням відповідно у 2,0 та у 2,3 рази. Виявлено більшу частоту клітин з асоціаціями акроцентричних хромосом у новонароджених із територій хімічного ураження на 7,8% та радіаційного – на 9,9%, ніж у дітей із районів екологічного комфорту. В останніх число асоційованих хромосом в одній клітині було найнижчим.

Ключові слова: хромосомні аберації, асоціації акроцентричних хромосом, новонароджені, екологічні райони.

Екологічна ситуація, що склалася в Україні, характеризується забрудненням довкілля комплексом антропогенних чинників хімічної і фізичної природи (включаючи радіонукліди), що здатні індукувати мутагенний ефект у соматичних і статевих клітинах людини [1]. Ступінь прояву такого ефекту за ідентичного мутагенного впливу визначається генетично зумовленою індивідуальною чутливістю до дії мутагена. Водночас в останнє десятиліття мутагенний пресинг (залежно від його інтенсивності і тривалості) може модифікувати реакцію геному на дію генотоксичних факторів, що проявляється у

вигляді адаптивного відгуку чи генетичної нестійкості у результаті підвищення або зниження чутливості геному до подальшої дії мутагенів [2]. Частота спонтанних хромосомних аберацій (ХА) є важливою кількісною характеристикою соматичного мутагенезу [3]. Дані щодо рівня ХА в неекспонованих групах людей вважаються базовими під час оцінки цитогенетичного ефекту, індукованого виробничими чи екологічними мутагенами. Провідними цитогенетичними лабораторіями світу встановлено певні закономірності спонтанного хромосомного мутагенезу в соматичних клітинах людини. Досягнуті успіхи у процесі вивчення геному людини дозволили розшифрувати послідовність нуклеотидів ДНК, встановити кількість генів, їхню структуру. Водночас залишається актуальним питання визначення механізмів реалізації генетичної інформації, їхньої регуляції [2]. Саме цьому напрямку функціональної геноміки присвячені сучасні дослідження стану хроматину інтерфазних ядер, ядерцевого апарату та ядерцеутворюючим районам акроцентричних хромосом [4]. Дослідженню закономірностей утворення асоціацій акроцентричних хромосом (ААХ) людини присвячено багато робіт [4, 5]. Було вивчено кількість і групову належність асоційованих хромосом, явища асоціацій акроцентриків зі специфічними зонами інших хромосом, мінливість частоти ААХ, що зумовлює порушення імунотетичного статусу організму і корелює з частотою хромосомних аберацій. Враховуючи вищесказане, метою роботи було встановлення частоти та спектра хромосомних аберацій, асоціацій акроцентричних хромосом у новонароджених з різних екологічних регіонів.

Матеріали і методи

Розподіл населення Івано-Франківської області на екологічні зони здійснено на основі екологічного паспорта області та даних досліджень екологічного стану України [6]. Матеріалом для дослідження була пуповинна кров 187

новонароджених із різних районів Івано-Франківської області (табл. 1). Проведення цитогенетичного аналізу новонароджених ґрунтувалося на дослідженні каріотипу лімфоцитів периферійної крові. Забір матеріалу проводили стерильними шприцами з додаванням 0,01 мл розчину гепарину, поміщали в сумку-термос ($t=5 - 7^\circ$) та протягом 1 – 2 год доставляли до акредитованої генетичної лабораторії ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет».

Культивування лімфоцитів та приготування препаратів хромосом проводилося за допомогою реактивів «PB MAX» фірми «Gibco» за методичними рекомендаціями, затвердженими МОЗ України [7]. Фарбування метафазних пластинок здійснювали за GTG-методом. Дослідження виготовлених препаратів проводили на оптико-електронному комплексі «Метаскан-2».

Аналізували метафазні пластинки з добрим розкидом хромосом. Від кожної дитини вивчено не менше 70 метафазних пластинок. Окрім ідентифікації асоціацій акроцентричних хромосом (ААХ), вивчали кількість хромосомних аберацій (ХА). Наявність ААХ оцінювали за відповідними критеріями [7]. Вираховували асоціативний індекс як співвідношення кількості клітин з асоціаціями до загальної кількості проаналізованих клітин (у перерахунку на 100%). Також визначили середнє число ААХ в одній клітині та середнє число хромосом в одній асоціації. Результати дослідження статистично оброблені з використанням комп'ютерної програми «Statistica for Microsoft V. 6.0» (Stat Soft Inc; 2001).

Результати та обговорення

Цитогенетичне дослідження рівня хромосомних аберацій у різних популяціях має велике значення в плані визначення відмінностей в інтенсивності мутагенних навантажень, можливості диференціації хімічних та радіаційних впливів. Загальна кількість ХА у дітей із зони екологічного благополуччя була відповідно у 2,0 та у 2,3 раза нижчою від аналогічних показ-

ників у новонароджених із зон із хімічного та радіаційного забруднення (рис. 1).

Загальна кількість ХА у дітей із зони екологічного благополуччя була відповідно у 2,0 та у 2,3 раза нижчою від аналогічних показників у новонароджених із зон з хімічного та радіаційного забруднення (табл. 2). В обстежених новонароджених із зони екологічного комфорту питома вага аберацій хромосомного і хроматидного типів становила відповідно 24,2 і 75,8%, у зонах хімічного і радіаційного забруднення – відповідно 21,0 і 79,0% та 30,2 і 69,8% (рис. 2). Отримані дані близькі до результатів інших досліджень про зіставлення аберацій хроматидного і хромосомного типу (77 і 23%) [3]. Аналізом типу ХА показано, що і у жителів екологічно несприятливого, і у жителів умовно екологічно чистого районів переважали аберації хроматидного типу (в середньому до 79%). У всіх обстежених серед аберацій хромосом найчастіше траплялися делеції з одиночними і парними фрагментами. Оскільки в якості оціночної дії малих доз іонізуючої радіації на організм використовують частоту нестабільних аберацій хромосом – дицентриків і кілець [1,8], нами проведено детальне вивчення цих хромосомних аномалій. Дицентрики траплялися тільки у новонароджених із зони з переважним радіаційним ураженням. У цих дітей також переважала частота кільцевих хромосом у 5,0 разів порівняно з такою ж у новонароджених із зони екологічного комфорту та в 3,3 раза – у новонароджених із зони із переважним хімічним забрудненням. У групі останніх помітно більшою була кількість аберацій хроматидного типу, що свідчить на користь хімічного мутагенезу. Частота одиничних фрагментів у 2,0 та 1,3 раза переважала таку у дітей екологічно сприятливої зони та зони переважного радіаційного забруднення відповідно.

Наші результати узгоджуються з даними інших авторів про відсутність різниці за загальною частотою ХА та за окремими типами пошкоджень хромосом між особами чоловічої та жіночої статі [9, 10].

Таблиця 1. Розподіл новонароджених Івано-Франківської області відповідно до екологічних умов проживання

№	Екологічні зони	Кількість новонароджених
1	Екологічного комфорту	80
2	Переважаючого хімічного забруднення	57
3	Переважно радіаційного забруднення	50

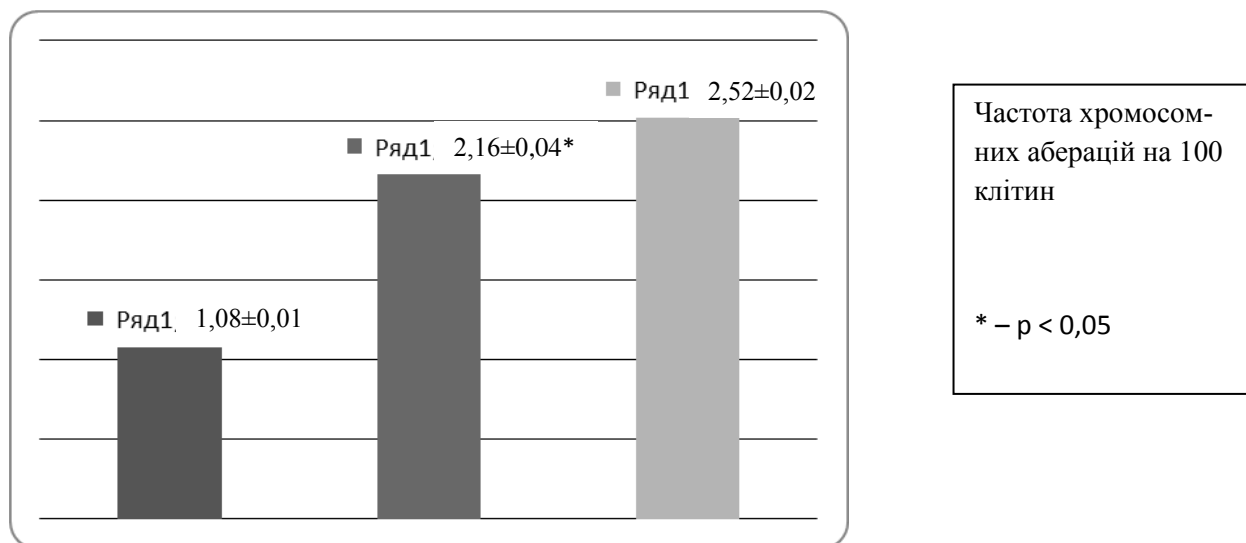


Рис. 1. Розподіл частоти хромосомних аберацій (%) у лімфоцитах периферійної крові новонароджених Івано-Франківської області. 1 – зона екологічного комфорту; 2 – зона переважного (1,08±0,01) хімічного забруднення; 3 – зона переважного радіаційного забруднення.

Таблиця 2. Частота та відсоткове співвідношення типів хромосомних аберацій у лімфоцитах периферійної крові новонароджених Івано-Франківських області

Типи аберацій	Кількість аберацій		
	Зона екологічного комфорту	Зона переважного хімічного забруднення	Зона переважного радіаційного забруднення
	На 100 клітин	На 100 клітин	На 100 клітин
Хромосомного типу	0,30±0,08	0,54±0,12	1,42±0,21*
парні фрагменти	0,23±0,06	0,48±0,05	0,84±0,18*
аномальні моноцентрики	0,04±0,21	0,04±0,002	0,23±0,13*
дицентрики	0	0	0,25±0,02
кільцеві хромосоми	0,03±0,13	0,02±0,003	0,10±0,05*
Хроматидного типу	0,78±0,24	1,62±0,008	1,10±0,25
одиначні фрагменти	0,710±0,003	1,40±0,15*	1,05±0,42
хроматидні обміни	0,07±0,001	0,22±0,002*	0,05±0,04
Всього аберацій	1,08	2,16	2,52

Примітка. * – Вірогідність відмінності показників порівняно із зоною екологічного комфорту (p<0,05).

Варто зазначити, що в лімфоцитах периферійної крові, стимульованих мітогеном фіт-гемаглютиніном до проліферації, визначено неоднакову кількість ААХ (табл. 3). Середня частота асоціацій на клітину дорівнювала 0,89. Встановлено більшу частоту клітин з ААХ у новонароджених із зон хімічного та радіаційного забруднення відповідно на 7,80 та 9,90% ніж у дітей із зони екологічного благополуччя. Середня кількість ААХ в одній клітині також була нижчою у новонароджених із зони екологічного

комфорту – в 1,16 раза порівняно з аналогічним показником у новонароджених із зони з переважним радіаційним ураженням та у 1,21 раза у новонароджених із хімічно забруднених територій. Число асоційованих хромосом в одній клітині було найменшим у новонароджених із зон екологічного комфорту, а у дітей із зони переважного хімічного та радіаційного забруднення цей показник був вищим відповідно у 1,64 та 1,60 раза.

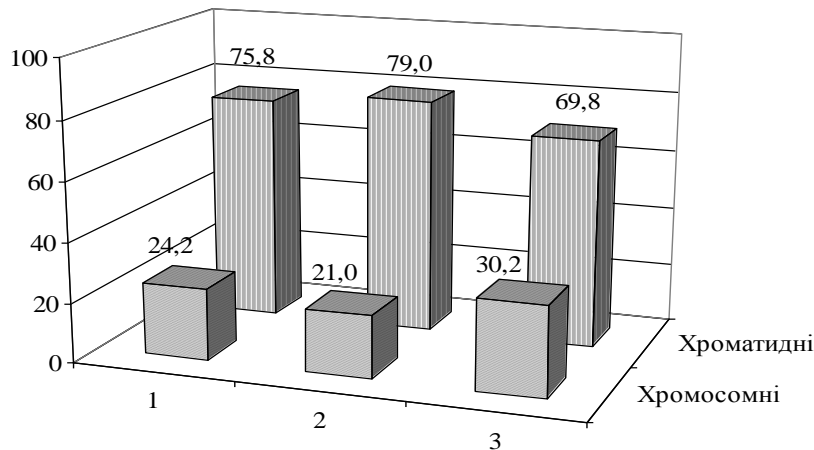


Рис. 2. Відсоткове співвідношення типів аберацій хромосом у лімфоцитах периферійної крові обстежених новонароджених Івано-Франківської області: 1 – зона екологічного комфорту; 2 – зона переважного хімічного забруднення; 3 – зона переважного радіаційного забруднення.

Таблиця 3. Частота асоціацій акроцентричних хромосом у лімфоцитах периферійної крові новонароджених Івано-Франківської області, $M \pm m$

Зона проживання	Частота клітин з ААХ, %	Середня кількість ААХ в одній клітині, %	Число асоційованих хромосом в одній клітині, %
Екологічного комфорту	78,2 \pm 0,22	1,32 \pm 0,16	1,74 \pm 0,22
Переважного хімічного забруднення	86,0 \pm 0,16	1,54 \pm 0,32	2,86 \pm 0,18*
Переважного радіаційного забруднення	88,1 \pm 0,21	1,60 \pm 0,13	2,78 \pm 0,15*

Примітка. * – Вірогідність відмінності показників порівняно із зоною екологічного комфорту ($p < 0,05$).

Таким чином, наявність мутагенних ефектів, встановлена за частотою та спектром ХА у лімфоцитах периферійної крові новонароджених, засвідчила генетичну небезпеку антропогенного забруднення. Якісна різниця між спектром ХА дозволяє розглядати ці цитогенетичні ефекти як індикатор забруднення довкілля. Отримані результати частоти ААХ корелювали з показниками частоти ХА (r коливався від 0,68 до 0,84), що підтвердило негативний вплив екологічних умов проживання на імуногенетичний статус та адаптивні можливості людини.

Висновки

1. Загальна кількість аберацій у дітей із зони екологічного благополуччя була у 2,0 рази нижчою за аналогічний показник у новонароджених із зони з хімічного забруднення та у 2,3 рази нижчою за останній у новонароджених із зони переважного радіаційного ураження.

2. В обстежених новонароджених із зони екологічного комфорту питома вага аберацій хромосомного і хроматидного типів становила відповідно 24,2 і 75,8%, зони хімічного забруднення (відповідно 21,0 і 79,0%) та зони переважно радіаційного забруднення (відповідно 30,2 і 69,8%).

3. У групі новонароджених із зони хімічного забруднення помітно більшою була кількість аберацій хроматидного типу, частота одиночних фрагментів переважала таку у дітей екологічно сприятливої зони та зони переважного радіаційного забруднення відповідно у 2,0 та 1,3 раза.

4. У новонароджених із зони з переважним радіаційним ураженням ідентифіковано поодинокі дицентрики, частота кільцевих хромосом була вищою у 5,0 та в 3,3 рази відповідно порівняно з такою у новонароджених із зони екологічного комфорту та хімічного забруднення.

5. Встановлено більшу частоту клітин з ААХ у новонароджених із зон хімічного та радіаційного забруднення відповідно на 7,8 і 9,9% порівняно з такою у дітей із зони екологічного благополуччя. Число асоційованих хромосом в

одній клітині було найнижчим у новонароджених із зони екологічного комфорту, а у дітей із зон хімічного та радіаційного забруднення цей показник був вищим відповідно у 1,64 та 1,60 рази.

Література

1. Балева Л.С., Номура Т., Сипягина А.Е., Карахан Н.М., Якушева Е.Н., Егорова Н.И. Цитогенетические эффекты и возможности их трансгенерационной передачи в поколениях лиц, проживающих в регионах радионуклидного загрязнения после аварии на Чернобыльской ЭС. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2016. Т. 61, № 3. С. 87–94.
2. Митина В.И., Дружинин В.Г., Головина Т.А., Глушков А.Н. Цитогенетические эффекты у населения сельскохозяйственных районов Кемеровской области. *Гигиена и санитария*. 2014. № 3. С. 74–79.
3. Пілінська М.А., Дибський С.С., Шеметун О.В., Талан О.О. Рівень спонтанних хромосомних аберацій у дітей з екологічно чистого регіону, встановлених при цитогенетичному аналізі рівномірно забарвлених метафазних хромосом. *Цитологія і генетика*. 2004. № 6. С. 45–48.
4. Schmid M., Haaf D., Schindler M. Meurer Centrometric association of a microchromosome, a new category of non-random arrangement of metaphase chromosomes. *Hum Genet*. 2009. Vol. 81, № 2. P. 127–136.
5. Jalperin-Lemaitre M., Henks I., Sell B. Comparison of acrocentric association in male and female cells: Relationship to the active nucleolar organizers. *Hum. Genet*. 2009. Vol. 126, № 2. P. 129–135.
6. Екологічний паспорт Івано-Франківської області. URL: <http://www.menr.gov.ua/content/article/5982> (дата звернення: 01.03.2018).
7. Зерова-Любимова Т.Е. Горovenko Н.Г. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: методичні рекомендації. Київ, 2003. 24 с.
8. Gutierrez E., Reyna Hinojosa R., Cudish S. Activity satellite association and polymorphism of Ag stained nucleolus organizer regions (Ag +NORs) in lymphocytes from women with cervical uterine cancer. *Arch. Med. Res*. 2007. Vol. 28, № 1. P. 19–23.
9. Warburton P.E. Chromosomal dynamics of human neocentromere formation *Chromosome Res*. 2004. № 12. P. 617–626.
10. Feuk L., Marschall C.R., Wintle R. et al. Structural variants; changing the landscape of chromosomes and design of disease studies. *Hum. Mol. Genet*. 2006. № 15. P. 57–66.

References

1. Baleva L.S., Nomura T., Syriahyna A.E., Karakhan N.M., Yakusheva E.N., Ehorova N.Y. Cytohenetycheskye efekty i vozmozhnomyi ih transheneratsyonnoi peredachy v pokoleniyakh lyts, prozhivayushchykh v rehyonakh radyonuklydnoho zahriaznennyia posle avaryi na Chernobylskoi AES. *Rossyiskyi vestnyk perynatolohyy i pedyatryi*. 2016. Vol. 61, № 3. P. 87–94.
2. Mytyna V.Y., Druzhynyn V.H., Holovyna T.A., Hlushkov A.N. Cytohenetycheskye efekty u naseleniya selskokhoziaistvennykh raionov Kemerovskoi oblasti. *Hyhyena i sanytariya*. 2014. № 3. P. 74–79.
3. Pilinska M.A., Dybskyi S.S., Shemetun O.V., Talan O.O. Riven spontannykh hromosomnykh aberatsii u ditei z ekolohichno chystoho rehionu, vstanovlenykh pry tsytohenetychnomu analizi rivnomirno zabarvlenykh metafaznykh chromosom. *Cytolohyia i henetyka*. 2004. № 6. P. 45–48.
4. Schmid M., Haaf D., Schindler M. Meurer Centrometric association of a microchromosome, a new category of non-random arrangement of metaphase chromosomes. *Hum Genet*. 2009. Vol. 81. № 2. P. 127–136.
5. Jalperin-Lemaitre M., Henks I., Sell B. Comparison of acrocentric association in male and female cells: Relationship to the active nucleolar organizers. *Hum. Genet*. 2009. Vol. 126, № 2. P. 129–135.
6. Ekolohichnyi pasport Ivano-Frankivskoi oblasti. URL: <http://www.menr.gov.ua/content/article/5982> (Last accessed: 01.03.2018).
7. Zerova-Liubymova T.E. Horovenko N.H. Cytohenetychni metody doslidzhenniahromosom liudyny: metodychni rekomendatsii. Kyiv, 2003. 24 p.
8. Gutierrez E., Reyna Hinojosa R., Cudish S. Activity satellite association and polymorphism of Ag stained nucleolus organizer regions (Ag +NORs) in lymphocytes from women with cervical uterine cancer. *Arch. Med. Res*. 2007. Vol. 28, № 1. P. 19–23.
9. Warburton P.E. Chromosomal dynamics of human neocentromere formation *Chromosome Res*. 2004. № 12. P. 617–626.
10. Feuk L., Marschall C.R., Wintle R. et al. Structural variants; changing the landscape of chromosomes and design of disease studies. *Hum. Mol. Genet*. 2006. № 15. P. 57–66.

KOCHERHA Z.R., KOVALCHUK L.Ye.

Ivano-Frankivsk National Medical University,

Ukraine, 76018, Ivano-Frankivsk, Halytska str., 2, e-mail: zoryanakocherha@gmail.com

CYTOGENETIC ASPECTS INSTABILITY TO THE GENOME IN NEWBORNS FROM DIFFERENT ECOLOGICAL DISTRICTS OF IVANO-FRANKIVSK REGION

Aim. Of the research work was to establish the frequency and spectrum of chromosomal aberrations, associations of acrocentric chromosomes in infants from different ecological regions of Ivano-Frankivsk region. **Methods.** Metaphase

plates of 187 infants from different ecological districts have been analyzed with the aim to determine the frequency and spectrum of chromosomal aberrations, associations of acrocentric chromosomes in newborns. **Results.** The obtained results of the frequency of associations of acrocentric chromosomes correlated with the frequency indices of chromosomal aberrations (r correlated from 0.68 to 0.84), that proved the negative influence of ecological living conditions on immunogenetic status and adaptive human capabilities. **Conclusions.** It was determined that the total number of chromosomal aberrations in newborns from districts of ecological comfort was 2.0 and 2.3 times lower as compared to newborns from zones with chemical and radiation contamination. The frequency of cells with associations of acrocentric chromosomes was 7.8 % higher in children from zones of chemical contamination and 9.9 % from zones of radiation pollution as compared to the children from districts of ecological comfort.

Keywords: chromosomal aberrations, associations of acrocentric chromosomes, newborns, ecological zones.