

БАГАЦЬКА Н. В., НЕФІДОВА В. С.✉, МЕДЗЯНОВСЬКА О. В.

Державна установа «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України»,

Україна, 61153, м. Харків, пр. Ювілейний, 52-А, e-mail: nval@ukr.net

✉ nval@ukr.net, (097) 715-64-15, (050) 958-05-99

ОСОБЛИВОСТІ ХРОМОСОМНОГО АПАРАТУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЮВЕНІЛЬНИМ ІДІОПАТИЧНИМ АРТРИТОМ ІЗ СУПУТНЬОЮ МУЛЬТИФАКТОРНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ

Мета. Визначення рівня хромосомних порушень у лімфоцитах периферичної крові дітей та підлітків, хворих на ювенільний ідіопатичний артрит, коморбідний із супутньою мультифакторною патологією *in vitro*. **Методи.** Цитогенетичний аналіз проведено у пацієнтів із ювенільним ідіопатичним артритом, коморбідним із супутньою мультифакторною патологією *in vitro*, за загальноприйнятою методикою. Статистичний аналіз результатів дослідження був проведений із застосуванням програм *Excel* та *SPSS Statistics 17.0*. **Результати.** Хромосомні аберації в лімфоцитах периферичної крові мали 100 % хворих. Загальний рівень хромосомних порушень у групі хворих із супутньою патологією склав 5,57 на 100 клітин, а в групі порівняння – 4,10 на 100 клітин. В обох групах превалювали аберації хроматидного типу. **Висновки.** У хворих на ювенільний ідіопатичний артрит, який супроводжувався іншою мультифакторною патологією, відзначалося збільшення спонтанного рівня хромосомних порушень у лімфоцитах крові *in vitro* в 1,4 раза порівняно з рівнем хромосомних аберацій у хворих без супутньої патології. Частота аберацій хроматидного типу перевищувала частоту аберацій хромосомного типу у 1,6 раза в основній групі та в 2,2 раза в групі порівняння.

Ключові слова: ювенільний ідіопатичний артрит, діти, підлітки, хромосоми, аберації, супутня мультифакторна патологія.

Вивчення патології суглобів є надзвичайно важливою державною та соціальною проблемами. Відомо, що у світі загальна захворюваність на ревматичні хвороби складає 15–20 %, в Україні – 10,5%. Особливої уваги проблема ревматичних хвороб заслуговує тому, що доволі часто вона починається у дитячому і підлітковому віці, перебігає значно тяжче, ніж у дорослих, і у багатьох випадках має несприятливий

вихід і високий процент інвалідизації. З плином часу ревматичні хвороби суттєво ускладнюють якість життя дорослої людини, призводять до значних економічних витрат, чим спричиняють негативний вплив на економіку всіх країн. Одним із найбільш розповсюджених ревматичних захворювань є ювенільний ідіопатичний артрит (ЮІА) [1].

У формуванні та розвитку ЮІА беруть участь численні середовищні фактори. Але особлива роль відводиться генетичним чинникам, що підтверджується підвищеною частотою виявлення ревматичних захворювань у родичів хворих і монозиготних близнюків, більшою схильністю жіночої статі до розвитку захворювання, а також асоціацією ревматоїдного артриту з певними локусами антигенів гістосумісності системи HLA, які дитина успадковує від своїх батьків [2].

Важливою ланкою у вивченні всіх особливостей перебігу патології є визначення стабільності геному хворої дитини. Ця необхідність зумовлена тим, що ЮІА – це складне аутоімунне захворювання, яке перебігає за впливу багатьох потенційно мутагенних факторів: порушення імунітету, складного лікування з використанням цитостатиків, протизапальних і гормональних препаратів, підвищення рівня ендомутагенів. У дослідженнях багатьох авторів відзначено, що хворим із порушеннями імунітету різної природи, в тому числі за аутоімунних захворювань, характерне підвищення рівня хромосомних аберацій (ХА). Це можна пояснити тим, що під час порушення роботи імунної системи інтерферон виробляється в недостатній кількості, а він є активатором процесів репарації ДНК. Крім того, деякі медикаментозні препарати, зокрема цитостатики і антиметаболіти, мають виражену мутагенну дію. Зазвичай вони безпосередньо пошкоджують молекулу ДНК в процесі реплікації і, діючи як інгібітори верете-

на поділу, здатні викликати анеуплоїдію і поліплоїдію. Існує декілька антиметаболітів, які мають виражену мутагенну дію, у тому числі антагоніст фолієвої кислоти – метотрексат [3–5]. У свою чергу клітини, в яких з'являються хромосомні аберації, не можуть правильно функціонувати, в них порушується експресія генів, з'являються аномальні метаболіти, які мають мутагенну активність. Таким чином, коло замикається: аномальні метаболіти викликають появу хромосомних аберацій, а хромосомні аберації – появу аномальних метаболітів. Це може негативно впливати на перебіг захворювання, його прогноз і лікування. Для цього необхідно вчасно виявляти хворих із підвищеним рівнем хромосомних аберацій і призначати фармакологічні препарати для захисту геному [6].

Крім того, наявність супутньої патології у хворих на ЮІА призводить до зниження якості життя, погіршує прогноз перебігу захворювання. Сучасні дослідження генетичних особливостей цього захворювання спрямовані на визначення мутацій генів, відповідальних за розвиток захворювання, тобто знаходження транскрибуючої ділянки або ділянок ДНК, що кодують певний аномальний функціональний продукт та зв'язок між клінічними ознаками захворювання, інтенсивністю болю і коморбідними станами пацієнтів із ЮІА з різними варіантами поліморфних ділянок відповідних генів [7].

Однак питання про стабільність хромосомного апарату хворих на ЮІА із супутньою мультифакторною патологією залишаються недостатньо вивченими, що й зумовило необхідність проведення нашого дослідження.

Матеріали і методи

Цитогенетичний аналіз було проведено у 59 дітей, хворих на ЮІА, віком від 3 до 17 років, із яких 32 дитини мали ЮІА, сполучений з іншою мультифакторною патологією (основна група). Серед супутньої патології частіше реєструвалися захворювання шлунково-кишкового тракту, патологія дихальної та сечостатевої систем. Групу порівняння склали 27 хворих на ЮІА без супутньої патології (група порівняння). Всі хворі були обстежені у відділенні внутрішніх хвороб та лабораторії медичної генетики інституту.

Культивування лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) проводилося за загальноприйнятою

методикою. Забарвлення препаратів хромосом проводили гомогенним і GTG-методами. Аналізували від 100 до 400 метафазних пластинок із визначенням усіх типів ХА (хромосомних, хроматидних, геномних). Усього було проаналізовано 12000 метафаз у дітей, хворих на ЮІА, із яких 6300 метафазних пластинок – у дітей основної групи та 5700 – у пацієнтів групи порівняння.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили на РС із використанням програми Excel. Для визначення вірогідності відмінностей використовували критерій Ст'юдента [8].

Результати та обговорення

Згідно з результатами цитогенетичного аналізу, каріотип усіх обстежених відповідав нормальному жіночому – 46,XX або нормальному чоловічому – 46,XY.

Цитогенетичне дослідження ЛПК як у хворих на ЮІА, сполучений з іншою мультифакторною патологією, так і у хворих на ЮІА без супутньої неінфекційної патології свідчило, що хромосомні аберації реєструвалися у 100 % хворих обох груп. Загальний рівень ХА в основній групі склав 5,57 на 100 клітин, а в групі порівняння – 4,10 на 100 клітин, $p < 0,001$. Частота абераційних метафазних пластинок в основній групі значно переважала частоту таких у групі порівняння (5,55 проти 3,80 на 100 клітин відповідно, $p < 0,001$).

Рівень аберацій хроматидного типу, до яких відносили одиночні ацентричні фрагменти в лімфоцитах крові дітей основної групи, також перевищував цей показник у групі хворих на ЮІА без супутньої патології (3,46 проти 2,81 на 100 клітин, $p < 0,05$) (табл.).

Водночас, частота аберацій хромосомного типу, до яких відносили парні ацентричні фрагменти, аномальні моноцентрики та кільцеві хромосоми, мали такі значення: 2,11 в основній та 1,30 в групі порівняння на 100 клітин, $p < 0,001$. Аномальні моноцентрики (0,02 на 100 клітин) та кільцеві хромосоми (0,03 на 100 клітин) траплялись лише в метафазних пластинках хворих основної групи. Дані щодо частоти та типів ХА в лімфоцитах периферичної крові хворих на ЮІА обох груп представлені в таблиці.

Таблиця. Характеристика хромосомних порушень у хворих на ЮІА у сполученні з іншою мультифакторною патологією та хворих на ЮІА без супутньої патології, $\bar{x} \pm m$

Типи хромосомних порушень	Основна група, (n=32)	Група порівняння, (n=27)	Вірогідність, P
Хроматидний тип:	3,46 ± 0,23	2,81 ± 0,22	<0,05
- одиночні ацентричні фрагменти	3,46 ± 0,23	2,81 ± 0,22	<0,05
Хромосомний тип:	2,11 ± 0,18	1,30 ± 0,15	<0,001
- парні ацентричні фрагменти	1,35 ± 0,15	1,02 ± 0,13	>0,05
- аномальні моноцентрики	0,02 ± 0,02	0,00 ± 0,00	>0,05
- передчасне розходження центромер	0,71 ± 0,11	0,28 ± 0,07	<0,001
- кільцеві хромосоми	0,03 ± 0,02	0,00 ± 0,00	>0,05
Усього	5,57 ± 0,29	4,10 ± 0,26	<0,001
Геномний тип:	0,56 ± 0,09	0,37 ± 0,14	
- поліплоїдні клітини	0,71 ± 0,11	0,35 ± 0,08	>0,05
- ендоредуплікація	0,05 ± 0,03	0,02 ± 0,02	
Усього	6,13 ± 0,30	4,47 ± 0,27	<0,001

Примітка. *n – число хворих дітей.

Серед порушень геномного типу в обох групах спостереження реєструвалися поліплоїдні клітини (0,51 в основній групі проти 0,35 в групі порівняння на 100 клітин) та клітини з ознаками ендоредуплікації (0,05 проти 0,02 на 100 клітин відповідно), частота яких статистично не відрізнялася.

Отже, можна констатувати, що діти основної групи мали вищий рівень хромосомних порушень порівняно з частотою ХА у хворих групи порівняння, тобто, імовірно, не тільки ЮІА, а й інша мультифакторна патологія може призводити до метаболічних порушень, які можуть спричинити негативний вплив на стан хромосомного апарату хворих. Враховуючи дані наукової літератури про дію лікарських препаратів на стабільність геному, слід враховувати і їх негативний вплив на підвищення рівня ХА в лімфоцитах крові хворих. Найбільш виражені мутагенні властивості мають цитостатики і антиметаболіти, які входять до базової терапії ЮІА. Найбільшу групу цитостатиків із мутагенною дією складають препарати алкілюючої дії, тобто похідні етиленіміну, дихлордиетиленіміну, нітрососечовини, які безпосередньо пошкоджують ДНК у процесі реплікації. Існує декілька антиметаболітів, що мають виражені мутагенні властивості, до яких належать антагоністи фолієвої кислоти, аналоги пуринових і піримідинових основ. Цитостатичні препарати, що діють як інгібітори веретена, викликають анеуплоїдію і поліплоїдію [9].

Аналіз індивідуальної частоти хромосомних мутацій у дітей та підлітків, хворих на ЮІА, показав, що рівень хромосомних порушень знаходився в межах від 1,0 до 12,0 на 100 клітин у хворих основної групи та від 1,0 до 7,0 на 100 клітин у хворих групи порівняння. Рівень хромосомних порушень від 1,0 до 3,0 на 100 клітин реєструвався у 16 % хворих на ЮІА у сполученні з іншою мультифакторною патологією та 30 % хворих на ЮІА без супутньої патології. Частоту ХА від 3,1 до 6,0 на 100 клітин мали майже 50 % обстежених основної групи та 63 % хворих групи порівняння. Рівень хромосомних порушень вищий від 6,0 на 100 клітин спостерігався у 34 % пацієнтів з ЮІА у сполученні з іншою мультифакторною патологією та лише у 7 % хворих на ЮІА без супутньої патології ($p < 0,001$).

Таким чином, цитогенетичний аналіз, проведений у хворих на ЮІА, який супроводжувався іншою мультифакторною патологією, свідчив про збільшення спонтанного рівня хромосомних аберацій у лімфоцитах крові *in vitro* в 1,4 раза порівняно з рівнем ХА у дітей, хворих на ЮІА без супутньої патології. Крім того, частота аберацій хроматидного типу у 1,6 раза перевищувала частоту аберацій хромосомного типу в основній групі та в 2,2 раза в групі порівняння, що відповідає закономірностям розподілу цих типів порушень хромосомного апарату в соматичних клітинах людини.

Висновки

1. Каріотип у хворих на ЮІА і у здорових дітей відповідав нормальному жіночому 46,XX і чоловічому – 46 XY. Хромосомні порушення траплялися в обох досліджуваних групах, але у хворих на ЮІА у сполученні з іншою мультифакторною патологією загальний рівень хромосомних порушень був вищим у 1,4 раза, ніж у

дітей групи порівняння.

2. Визначено, що індивідуальний рівень ХА у дітей основної групи підвищувався до 12 %, в той час як у хворих на ЮІА без супутньої патології цей показник не перевищував 7 %. Превалюючими були аберації хроматидного типу (одиначні ацентричні фрагменти).

References

1. Neiko E.M., Yatsyshyn R.I., Shtefuk O.V. Rheumatoidnij artrit: a modern view on the problem. *Ukr. Revmat. zhurn.* 2009. T. 36, No. 2. P. 35–39. [in Ukrainian] / Нейко Є.М., Яцишин Р.І., Штефук О.В. Ревматоїдний артрит: сучасний погляд на проблему. *Укр. Ревмат. журн.* 2009. Т. 36, № 2. С. 35–39.
2. Yagur V.E. Revmatoidnij artrit: structura geneticheskoy predraspolozhenosti, kliniko-geneticheskie osnovi diagnoza i prognoza: avtoref. dys. ... d-ra med. nauk. Minsk, 2012. 48 p. [in Russian] / Ягур В.Е. Ревматоїдний артрит: структура генетической предрасположенности, клинико-генетические основы диагноза и прогноза: автореф. дис. д-ра мед. наук. Минск, 2012. 48 с.
3. Pinskih I.N., Ilinskih E.N., Ilinskih N.N. Autoimmunnie sosnoyaniya i problema citogeneticheskoy nestabilnosti organizma. Aktualnie problemy biologii, mediciny i ekologii: sb. nauch. trudov. Novosibirsk, 2004. Vip. 1. P. 28–33. [in Russian] / Ильинских И.Н., Ильинских Е.Н., Ильинских Н.Н. Аутоиммунные состояния и проблема цитогенетической нестабильности организма. Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии: сб. науч. трудов. Новосибирск, 2004. Вып. 1. С. 28–33.
4. Jarmalaitė S., Dedonytė V., Mierauskienė J., Šimkutė L., Ranceva J., Butrimienė I. Cytogenetic effects of treatment with methotrexate and infliximab in rheumatoid arthritis patients. *Biologija.* 2008. Vol. 54, No. 1. P. 7–11.
5. Barut K., Adrovic A., Şahin S., Kasapçorur Ö. Juvenile Idiopathic Arthritis. *Balkan Med. J.* 2017. 34 (2). P. 90–101.
6. Dvornik A.S., Pererva T.P., Kunah V.A. Antimutagenез yak sistema zachystu organizmu vid ushkodguyuchih factoriv endogennogo ta ekzogennogo pokhodgennya. *Cytologiya i genetika.* 2004. T. 38, № 5. P. 62–71. [in Ukrainian] / Дворник А.С., Перерва Т.П., Кунах В.А. Антимутагенез як система захисту організму від ушкоджуючих факторів ендогенного та екзогенного походження. *Цитологія і генетика.* 2004. Т. 38, № 5. С. 62–71.
7. Procuk L.O., Stanislavchuk M.A., Shlikova O.A. Vpliv polimorfizmu gena serotoninovih receptoriiv 5-HTR 2a т102с на viragenist bolovogo syndromu i trivozhno-depresivnih rozladiv u hvorih na revmatoidnij artrit. *Ukr.Revmat. zhurn.* 2016. № 63 (1). P. 61–64. [in Ukrainian]. / Процюк Л.О., Станіславчук М.А., Шликова О.А. Вплив поліморфізму гена серотонінових рецепторів 5-HTR 2a т102с на вираженість больового синдрому і тривожно-депресивних розладів у хворих на ревматоїдний артрит. *Укр. Ревмат. журн.* 2016. № 63 (1). С. 61–64.
8. Atramentova L.A., Utevskaia O.V. Statisticheskie metody v biologii: uchebnik dlya stud. vyssh. uch. zav. Gorlovka: Likhtar, 2008. 248 p. [in Russian] / Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии: учебник для студ. высш. уч. зав. Горловка: Ліхтар, 2008. 248 с.
9. Madhyastha S., Bairy K.L., Somayaji S.N. Protective effect of vitamin A on methotrexate induced micronuclei. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics.* 2007. Vol. 6 (1). P. 1–4.

BAGATSKA N. V., NEFIDOVA V. E., MEDZIANOVSKA O. V.

SI «Institute for Children and Adolescents Health Care of the NAMS of Ukraine»,
Ukraine, 310152, Kharkov, Jubileyny pr., 52-A, e-mail: nval@ukr.net

FEATURES OF THE CHROMOSOMAL APPARATUS IN PATIENTS WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS WITH CONCOMITANT MULTIFACTORIAL PATHOLOGY

Aim. To determine the level of chromosomal disorders in peripheral blood lymphocytes of children and adolescents with juvenile idiopathic arthritis with concomitant multifactorial pathology *in vitro*. **Methods.** Cytogenetic analysis was carried out in patients with juvenile idiopathic arthritis with concomitant multifactorial pathology *in vitro*, using a common methodology. Statistical analysis of the results of research was carried out using Excel software package and SPSS Statistics 17.0. **Results.** Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes were revealed in 100 % of patients. The general level of chromosomal abnormalities in the patients with concomitant pathology was 5.57 per 100 cells, and in the comparison group – 4.10 per 100 cells. In both groups aberrations of chromatid type prevailed. **Conclusions.** In patients with juvenile idiopathic arthritis, accompanied by different multifactorial disorders, spontaneous level of chromosomal abnormalities in blood lymphocytes *in vitro* was 1.4 times higher compared to the level of chromosomal abnormalities in patients without concomitant pathology. The frequency of chromatid type aberrations was higher than the chromosome type aberrations rate in 1.6 times in the main group and in 2.2 times in the comparison group.
Keywords: juvenile idiopathic arthritis, children, adolescents, chromosomes, aberrations, concomitant multifactorial pathology.