

УДК 575.18.

**Муравйова О. А.<sup>1</sup>**, асп., **Боброва В. М.<sup>2</sup>**, мол. науков. співроб.

<sup>1</sup>Одеський державний університет, кафедра генетики та молекулярної біології,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

<sup>2</sup>Одеський медичний університет, Інститут нових медичних технологій та проблем-  
них захворювань,

Валіховський пров., 2, Одеса, 65026, Україна

## ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ У ВИРІШЕННІ ПРОБЛЕМ РЕПРОДУКЦІЇ ЛЮДИНИ

Наведено огляд літератури про роль хромосомних аномалій у пренатальній загибелі ембріонів та плодів у людини, а також про вплив зазначених аномалій на вагітність та репродуктивну здатність. Відзначена роль сучасних цитогенетичних досліджень у вирішенні проблем репродукції. Припускається значна роль гетерохроматинових районів хромосом у виникненні хромосомних та геномних мутацій.

**Ключові слова:** хромосоми, ембріони, безплідність, аберації.

Однією із складових природного добору є елімінація мутантних індивідуумів у онтогенезі, а саме в період ембріонального розвитку. Внаслідок генетичної мінливості у кожному поколінні значна частина організмів гине на ранніх етапах онтогенезу. В основному це репродуктивні втрати, пов'язані з спонтанними абортами першого триместру вагітності [1, 2]. Відомо, що виживаність і відтворення — дві складові пристосованості; генотипові відмінності за цими ознаками безпосередньо оцінюються природним добром [3].

Аномалії хромосом, які виникають у зародкових клітинах, призводять до різноманітних уроджених патологій у людини [4, 5, 6, 7, 8]. Геномні та хромосомні мутації грають важливу роль в еволюції генотипу. Нагромадження хромосомних аномалій у соматичних клітинах є одним із факторів, стимулюючих розвиток клонів злоякісних клітин, а також процеси старіння організму [3]. Роль хромосомної патології у пренатальній загибелі ембріонів або плодів у людини та у загальному вантажі множинних уроджених вад дуже велика. У середньому близько 40% діагностованих спонтанних абортів зумовлені хромосомними абераціями [9, 10, 11, 12, 13]. Близько 7% усіх мертвороджених мають хромосомні порушення. Саме хромосомні аберації у людини є причиною синдромів з множинними вадами розвитку та зниженою життєздатністю [2, 4, 14, 15]. Загальна загибель бластоцист до і після імплантації складає 30-40%, і роль хромосомних аномалій у загибелі бластоцист дуже значна [1]. Це підтверджується даними щодо хромосомних аберацій та їх динаміки, які отримані за досліджень у більш пізні терміни переривання вагітності. Чим раніше настає аборт, тим вірогідніше, що його причиною є хромосомне порушення. Абортуси перших 2-4 тижнів містять аномалії хромосом у 69,2% випадків. У першому триместрі вагітності хромосомні аномалії виявляються приблизно у 53% абортусів, у другому триместрі — у 30%, на 20-27 тижні

— у 6,6% [2, 16]. У матеріалі спонтанних абортусів спостерігаються трисомії по всіх аутосомах, у тому числі по хромосомі 1, але з різною частотою. Можна припустити, що участь хромосоми 1 у тяжких аномаліях розвитку і виникненні абортусів пов'язана з порушенням вмісту у ній великих блоків структурного гетерохроматину. На прикладі С-хроматину доведена стійка спадкоємність С-варіантів у родинах. Сателітна ДНК гетерохроматину може грати важливу роль у розпізнанні гомологів, визначати їх розташування в інтерфазному ядрі і т. і. [17, 18]. Тому структурні порушення гетерохроматину можуть бути причиною анеуплоїдії та інших хромосомних аберацій.

Існує думка, що більшість аномалій чисельності хромосом є спорадичними і не передаються у спадок. Однак фенотипово нормальні батьки, які мають збалансовані структурні перебудови хромосом (збалансовані реципрокні транслокації, робертсонівські транслокації, перичентричні інверсії), передають нащадкам ці хромосомні порушення. При дозріванні статевих клітин випадковий під час клітинних поділів розподіл перебудованих хромосом і їх гомологів призводить до появи декількох типів гамет, одні з яких виявляються нормальними, інші містять таку комбінацію хромосом, яка після запліднення дає зиготу зі збалансованим перебудованим каріотипом, треті утворюють при заплідненні хромосомно незбалансовані зиготи. Основним результатом цих порушень є внутрішньоутробна елімінація аномальних ембріонів і плодів [16, 14, 19]. Це підтверджується останніми дослідженнями абортованих преімплантаційних ембріонів у порівнянні з нормальними ембріонами.

Здатність хромосом успадковувати структурний гетерохроматин не виключає можливості утворення його варіантів *de novo*. Гетерохроматин має порівняно великі розміри у хромосом 1, 9 і 16. Розмір вторинних перетяжок у цих хромосом коливається у широких межах. Найбільша варіабельність вторинних перетяжок виявляється в аутосомі 9, а найменша — в аутосомі 16 [4, 17]. Найбільш можливим механізмом виникнення варіантів *de novo* є нерівний кросинговер між гетерохроматиновими районами гомологічних хромосом у мейозі, який можливий тому, що кон'югують райони з повторювальними послідовностями ДНК [17, 18]. Особливо багато структурних аберацій — реципрокних транслокацій, інверсій, делецій і особливо робертсонівських транслокацій — у безплідних пацієнтів [5, 7, 19, 20, 21]. Повні трисомії аутосом виявляються у ембріонів або плодів [2, 16]. Згідно з дослідженнями багатьох авторів можна зробити висновок, що із 1000 зачат 580 зигот гине до другого тижня вагітності, при цьому припускається, що 90% доімплантаційної летальності обумовлено хромосомними аномаліями [2, 4]. Дуже ймовірно, що у цих випадках порушується взаємодія між зиготою та тканинами маточних труб або матки, внаслідок чого підвищується вірогідність передчасної імплантації і наступного відчуження хромосомно аномального зародка. В основі усіх цих процесів лежить порушення комплементарних реакцій між білками клітин зародка і відповідними білками клітин материнського організму (реакції типу антиген-антитіло).

Можливо, що декотрі з лікарських препаратів, медичних втручань, стресів та ін., впливаючи на селективні бар'єри і послаблюючи природний добір, підвищують вірогідність народження мутантного потомства. У зв'язку з цим можна розглядати спонтанне переривання вагітності як реакцію пристосування, направлену

на швидке звільнення популяції від індивідуумів з аномаліями хромосом [2]. Для індивідів, які є носіями реципрокних транслокацій, преімплантаційна генетична діагностика є важливим заходом по виявленню хромосомно збалансованих ембріонів і запобіганню спонтанних абортів [22].

Щодо безплідності, то важливою її причиною є хромосомні аномалії статевих хромосом. Сучасні цитогенетичні дослідження вказують на високий відсоток гонадосоматичного мозаїцизму у таких пацієнтів: кількісні варіанти  $X$  та  $Y$  хромосом, реципрокні транслокації, Робертсонівські транслокації, інверсії та фрагільні ділянки 6q13, 17p12, 10q24. Делеції більшої частини довгого плеча  $Y$ -хромосоми займають особливе місце у репродуктивних аномаліях, оскільки гетерохроматин  $Yq$  хромосоми має принципове значення для визначення статі чоловіків [3, 9]. У чоловіків у подружжях, жінки яких страждають повторними спонтанними викиднями, спостерігається підвищена частота варіанту збільшеного довгого плеча  $Y$ -хромосоми ( $Yq+$ ).

Таке захворювання, як синдром Клайнфельтера, — одне із найчастіших серед хромосомних аномалій при чоловічому безплідді [23, 24]. Раніше існувала гіпотеза, що тільки пацієнти з мозаїчним каріотипом 46,  $XY / 47, XXY$  можуть дати гамети з нормальним каріотипом [25]. З'ясувалось, що аномальні зародкові клітини формують сперматозоїди як з аномальним, так і з нормальним каріотипом. Відомо 13 випадків народження здорових немовлят від батьків з немозаїчним синдромом Клайнфельтера [14, 24, 26].

Цікаві факти отримано при консультуванні 25-річної жінки з безплідності за характерних ознак синдрому Шерешевського-Тернера. У цієї пацієнтки вперше був знайдений каріотип з мозаїчним комплексом 45,  $XO / 48, XXY +18 / 46, XX$  [27]. При цьому знайдено  $Y$ -хромосому в ооциті. Автори припускають, що клон клітин 45,  $XO$  виник із клітин 46,  $XY$  на дуже ранній стадії розвитку зиготи. Часткове нерозходження хромосом одного із батьків призвело до утворення клітин 48,  $XXY+18$ .

Викладені факти свідчать про важливу роль цитогенетичних досліджень у вивченні проблем репродукції людини.

Використання нових технологій у цитогенетиці зробило значний внесок у вивчення хромосомних порушень [28, 29]. Одним із таких методів є флуоресцентна гібридизація *in situ* (FISH), яка використовується для вивчення структурних перебудов хромосом [30]. Крім того, FISH використовується для виявлення незбалансованих аберацій хромосом у ембріонів перед імплантацією [31].

Методи пренатальної діагностики генетичних порушень міцно увійшли в практику медико-генетичного контролю за станом плода у сім'ях з підвищеним ризиком народження хворої дитини. При цьому клітини плода для генетичного дослідження одержують шляхом проведення різних інвазивних процедур (аспірації ворсин хоріона або плаценти, амніоцентезу, кордоцентезу) у відповідні терміни вагітності. Така діагностика необхідна для пар, у яких один з партнерів є носієм збалансованої транслокації, бо саме ця мутація призводить до високої ймовірності спонтанних викиднів [7, 20, 21, 32].

В останній час запропоновано неінвазивний підхід для обстеження клітин плода з метою пренатальної діагностики хромосомних анеуплоїдій. З'ясувалось, що оптимальним об'єктом для генетичного аналізу плода є його клітини, які присутні у

крові матері під час вагітності, — так звані “недовгоіснуючі” нормобласти або ядромістки еритроцити плода [28]. В останній час інтерес до дослідження цих клітин збільшується у зв'язку з можливістю їх розпізнавання і аналізу без проведення інвазивних процедур. Таким чином, цей новий метод у майбутньому матиме суттєві переваги перед сучасними методами пренатальної діагностики завдяки безпечності для здоров'я матері і плода.

Поєднуючи цитогенетичні дослідження з іншими видами досліджень (біохімічних, імунологічних та ін.), можна отримати більш повне уявлення про генетичні порушення в організмі обстежених з метою прогнозу уроджених вад та профілактики їх виникнення.

## Література

1. Чайка Г. В. Невиношування вагітності у жінок, які проживають у регіонах тривалого впливу нітратів. К., 1996. — С. 1-3.
2. Головачев Г. Д. Наследственность человека и внутриутробная гибель. — М.: Медицина, 1983. — С. 4-76.
3. Левонтин Р. Генетические основы эволюции. — М.: Мир, 1978. — С. 1-7.
4. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. — М.: Мир, 1989. — Т. 1. — С. 45-67.
5. Fraccaro M. The 11q; 22 translocation: A European collaborative analysis of 43 cases // Hum. Genet. — 1980. — V. 56. — P. 21-51.
6. Foresta C. High incidence of sperm sex chromosomes aneuploidies in two patients with Klinefelter's syndrom. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1998. — V. 83. — P. 203-205.
7. Fryns J. P. Excess of mental retardation and / or congenital malformation in reciprocal translocations in man. // Hum. Genet. — 1986. — V. 72. — P. 1-8.
8. Lim A. S. T. Estimates of sperm sex chromosome disomy and diploidy rates in a 47, XXY / 46, XY mosaic Klinefelter's patient // Hum. Genet. — 1999. — P. 405-406.
9. Angell R. R. Chromosome studies in human vitro fertilization // Hum. Repr. — 1986. — V. 7. — P. 333-339.
10. Boue J. Retrospectiv and prospective logical studies of 1500 Karyotyped spontaneous human abortions // Hum. Repr. — 1975. — V. 12. — P. 11-26.
11. Boue A. Cytogenetics of pregnancy mastage // Adv. Hum. Genet. — 1985. — V. 14. — P. 1-57.
12. Luciani J. M. Studuy meiotic chromosomes in a case of Klinefelter's disease with spermatogenesis and 46, XY / 47, XXY karyotype // Ann. Genet. — 1970. — V. 13. — P. 249-253.
13. Kjessler B. Karyotype meiosis and sprmatogenesis in a sample of men attending an infertility clinic // Monogr. Hum. Genet. — 1966. — V. 2. — P. 1-92.
14. Ron-El R. Birth of helthy neonate following the intracytoplasmic injection of testicular spermatozoa from a patient with Klinefelter's syndrom // Hum. Reprod. — 1999. — V. 14. — P. 368-370.
15. Reubinoff B. E. Birth in a non-mosaic Klinefelter's syndrome after testicular fine needle aspiration, intracytoplasmic sperm injection and preimplantation genetic diagnosis // Hum. Reprod. — 1998. — V. 13. — P. 1887-1892.
16. Бочков Н. П., Захаров А. Ф. Медицинская генетика. — М.: Медицина, 1984. — № 24. — 128 с.
17. Coonen E. Preimplantation genetic diagnosis of a reciprocal translocation  $t(3, 11)(q 273; 24.3)$  in sibling // Molecylar Human Reproduction. — 2000. — V. 6, № 3. — P. 199-206.
18. Прокофьева-Бельговская А. А. Гетерохроматические районы хромосом. — М.: Наука, 1986. — 360 с.
19. Elias S. First trimester prenatal diagnosis of trisomy 21 in fetal cells from maternal blood // Lancet. — V. 340. — P. 1033.
20. Coon C. M. Infertiliti couples with Robertsonion translocations: preimplantation genetic analysis of embryos reveals chaotic cleavage division // Hum. Genet. — 1998. — V. 102. — P. 117-123.
21. Van Assche E. Preimplantation grnrtic diagnosis and sperm analysis by fluorescence in-situ hybridization for the most common reciprocal translocation  $t(11; 22)$  // Mol. Hum. Reprod. — 1999. — V. 5. — P. 682-690.
22. Coonen E. Presence of chromosomal mosaicism in abnormal preimplantation embryos detected by fluorescent in-situ hybridisation // Hum. Genet. — 1994. — V. 94. — P. 609-615.
23. Ron-El R. Strassburger A. 47, XXY fetus conceived after ISCI of spermatozoa from a patient with non-mosaic Klinefelter's syndrome // Hum Reproduction. — 2000. — V. 15. — P. 1804-1806.

24. Wang J-Y. Fluorescence in-situ hybridization analysis of chromosomal constitution in spermatozoa from a mosaic 47, XXY/46, XY male // *Molecular Human Reproduction*. — 2000. — V. 6, № 7. — P. 665-668.
25. Rajendra B. R. A study of mitosis, meiosis, histology, and scanning electron microscopic details of spermatogenesis in an infertility male with probable 46, XY/47, XXY germinal mosaicism // *Am. J. Genet.* — 1981. — V. 10. — P.119-131.
26. Okada H. Klinefelter's syndrome in the male infertility clinic // *Hum. Reprod.* — 1999. — V. 14. — P. 946-952.
27. Tur-Kaspa I. A human egg with a Y chromosome // *Hum. Repr. Abstr.* — 2000. — P.48.
28. Золотухина Т. В. Неинвазивный подход к исследованию клеток плода в целях пренатальной диагностики хромосомных анеуплоидий // *Генетика*. — 1999. — Т. 2, № 10. — С. 1422-1430.
29. Назаренко С. А. Идентификация маркерных хромосом и транслокаций человека с помощью компьютерной диагностической базы данных и флюоресцентной гибридизации *in situ* // *Генетика*. — 1998. — Т. 34, № 1. — С. 114-121.
30. Pechka B. Type and frequency of chromosome aberration in 781 couples undergoing intercytoplasmic sperm injectoin // *Human Reproduction*. — 1999. — V. 14, № 9. — P. 2257-2263.
31. Rubio C. High incidence of chromosomal abnormalities in preimplantation embryos from recurrent spontaneous abortion patients // *Abstracts of the 16<sup>th</sup> Annual meeting of the ESHRE, Bologna, Italy*. — 2000. — P.81-82.
32. Bourne H. Deliveri of normal twins following the intracytoplasmic from a patient with 47, XXY Klinefelter' syndrom // *Hum. Repr.* — 1997. — V. 11. — P. 2447-2450.

Муравьева Е. А.<sup>1</sup>, Боброва В. М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Одесский государственный университет,  
кафедра генетики и молекулярной биологии,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

<sup>2</sup>Одесский медицинский университет,  
Валиховский переулок, 2, Одесса, 65026, Украина

#### ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМ РЕПРОДУКЦИИ ЧЕЛОВЕКА

##### Резюме

Проведен обзор литературы о роли хромосомных аномалий в пренатальной гибели эмбрионов и плодов у человека, а также о влиянии таких аномалий на репродуктивную способность. Отмечена роль современных цитогенетических исследований в разработке проблем репродукции. Высказано предположение о значительной роли гетерохроматиновых участков хромосом в возникновении хромосомных и геномных мутаций.

**Ключевые слова:** хромосомы, эмбрионы, бесплодие, aberrации.

Muravyova E. A.<sup>1</sup>, Bobrova V. N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Odessa State University, Department of Genetic and Molecular Biology,

<sup>2</sup>Dvoryanskay st., 2, Odessa, 65026, Ukraine

Odessa Medical University,

Valechovskiy per., Odessa, 65026, Ukraine

#### CYTOGENETIC INVESTIGATIONS IN SOLVING THE PROBLEMS OF HUMAN REPRODUCTION

##### Summary

A review of literature, where the role of chromosomal abnormalities in prenatal death of human embryos and fetus, and their effects on reproductive functions was defined. The role of modern cytogenetics investigations in solving of the reproductive problems has been done. A suggestion about the considerable role of heterochromatic regions of chromosomes in the rise of chromosomal and genomic mutations has been made.

**Key words:** chromosomes, embrions, infertility, aberrations.