

менше – на 4-5-ом и 7-ом місяцях внутріутробного розвитку. Динаміка альвеолярного отростка правої и лівої ВЧ у плодів і новонароджених суттєво збільшується протяженні 7-10 місяців и у новонароджених, и менше – на 4-6 місяцях внутріутробного розвитку.

**Ключевые слова:** верхня щелесть, альвеолярний отросток, морфометрія, плод, людина.

Стаття надійшла 21.04.2017 р.

5th and 7th months of the intrauterine development. The length of the cellular process of the right and left maxillae of fetuses and newborns increases considerably during 7-10 month sand newborns, and the least increase is observed during the 4-6th months of the intrauterine development.

**Key words:** upper jaw, cellular process, morphometry, fetus, human.

Рецензент Гунас І.В.

УДК 575.113+612.112+613.952+613.954

**З. Р. Кочерга**

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», м. Івано-Франківськ

## ЗНАЧЕННЯ КАРІОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ ЕПІГЕНЕТИЧНИХ МЕХАНІЗМІВ КОНТРОЛЮ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕНОМУ НОВОНАРОДЖЕНИХ ІЗ ЗАТРИМКОЮ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ

Для визначення внеску генетичного чинника у затримку внутрішньоутробного розвитку плода обстежено 75 новонароджених, віком 1-3 дні: 30 новонароджених із затримкою внутрішньоутробного розвитку (ЗВУР) та 35 здорових новонароджених дітей, з них - 33 дівчинки і 32 хлопчики. Встановлено активність функціонального стану геному та мікроядерний індекс нейтрофільних гранулоцитів периферійної крові на різних етапах реалізації спадкової інформації. За індексами хроматизації, статевого хроматину, ядерцевим та патологічних ядер виявлено порушення імуногенетичного статусу новонароджених із ЗВУР порівняно із здоровими дітьми. Виявлені нами зміни ФСГ нейтрофільних гранулоцитів засвідчують єдність генетичних та епігенетичних механізмів контролю структурного і функціонального аспектів гомеостазу в процесі росту і розвитку дитячого організму.

**Ключові слова:** функціональний стан геному, нейтрофільні гранулоцити, затримка внутрішньоутробного розвитку.

Прогрес сучасної перинатології виявив нові проблеми, пов'язані з гестаційним процесом і антенатальною охороною плода. Особливої уваги у цьому напрямку заслуговують питання профілактики народження дітей з низькою масою тіла та затримкою внутрішньоутробного розвитку (ЗВУР), що визначено одним з пріоритетних напрямів охорони здоров'я в Україні [1, 7]. Оскільки останнім часом зберігається тенденція до зростання антропогенного навантаження та поєданого впливу екзогенних шкідливих чинників на ембріон та плід, виникла необхідність у з'ясуванні ролі генетичних факторів у реалізації цього впливу на майбутню дитину. Вивчення одного з механізмів епігенетичного контролю генної експресії, який зумовлений спадковими, але потенційно зворотними змінами в структурі хроматину може доповнити ланки патогенезу виникнення синдрому ЗВУР. Епігенетичні модифікації ступеня компактизації хроматину, стан ядерцевого апарату соматичних клітин відображають функціональний і структурний аспекти гомеостазу. Саме епігенетичні механізми контролюють вибірковість зчитування інформації і детермінують майбутнє клітини- якою вона повинна бути, які гени включати для синтезу білків, а які виключати [8, 9, 10]. З урахуванням наведеного вище, в основі наукового дослідження лежить розробка діагностичних та прогностичних критеріїв ЗВУР за епігенетичними критеріями функціонального стану геному (ФСГ) та цитологічними показниками ядер нейтрофільних гранулоцитів у новонароджених.

**Метою** роботи було встановлення функціонального стану геному дітей за індексами хроматизації (IX), статевого хроматину (СХ), нуклеолярний (НІ) та патологічних ядер (ПЯ) нейтрофільних гранулоцитів периферійної крові (НГПК) новонароджених дітей.

**Матеріал та методи дослідження.** Матеріалом дослідження слугували цитологічні препарати нейтрофільних гранулоцитів периферійної крові. Обстежено 75 новонароджених, віком 1-3 дні, з них 30 із затримкою внутрішньоутробного розвитку та 35 здорових новонароджених дітей.

Для цитогенетичного дослідження у пацієнтів забирали 0,5 мл периферійної крові, виготовляли мазки крові, які після висушування доставлялись у генетичну лабораторію кафедри медичної біології з курсом медичної генетики. Забарвлення ядер здійснювали за Фольгеном у модифікації Л.Є. Ковальчук і співав [6]. ФСГ встановлювали за чотирма індексами каріограми: хроматизації (IX), ядерцевий (ЯІ), гетеропікнотичної Х-хромосоми (СХ), патологічних ядер (ПЯ).

Препарати досліджували методом світлової мікроскопії за допомогою оптико-електронного комплексу Метаскан-2, що описано у передніх роботах [3]. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за допомогою персонального комп'ютера і програми для

роботи з електронними таблицями Microsoft Excel. Використовували t-критерій Ст'юдента, реалізований у пакеті «STATISTICA-6». Враховували рекомендації щодо індивідуальної мінливості у кожної дитини [4].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Структура хроматину, засвідчує активність реалізації спадкової інформації, підтверджує інтенсифікацію транскрипції та трансляції. Остання залежить від співвідношення конденсації/деконденсації хроматину, що лежить в основі епігенетичного механізму контролю експресії генів. Цей процес тісно пов'язаний з метилюванням ДНК, метильовані фрагменти якої можуть відштовхувати білки, які активують ген або притягувати інші білки, які беруть участь у щільній упаковці модифікованого гена за рахунок зміни структури хроматину [2]. На нашу думку, такий механізм лежить в основі різниці показників індексу хроматизації у новонароджених із ЗВУР і здорових новонароджених. ІХ, який засвідчує активність транскрипції, у новонароджених дітей незначно переважав аналогічний показник у новонароджених із ЗВУР: відповідно  $0,98 \pm 0,01$  та  $0,95 \pm 0,02$  у дівчаток і  $0,97 \pm 0,01$  та  $0,95 \pm 0,02$  умовних одиниць у хлопчиків (табл.).

Закономірним продовженням дослідження ФСГ був аналіз регуляторних сайтів Х-хромосоми, блокування яких та незначні зміни СХ у жінок викликає порушення контролю синтезу необхідної клітині інформаційної РНК. За результатами індексу СХ доведено, що у новонароджених зі ЗВУР дівчаток він був у 1,2 рази меншим порівняно з аналогічним показником у здорових новонароджених (відповідно  $14,38 \pm 1,21$  та  $17,29 \pm 1,27$  %) Отримані дані доводять можливу неузгодженість контролю І етапу реалізації спадкової інформації, зумовлену одночасно експресією генів двох Х хромосом [5]. У новонароджених хлопчиків із ЗВУР СХ був у 2,3 рази більший ніж аналогічний показник у здорових новонароджених (відповідно  $3,14 \pm 0,57$  та  $1,33 \pm 0,13$  %), що свідчить про пригнічення генів регуляції транскрипції єдиної Х-хромосоми.

Кількість ядерець, їхні розміри і структура відображають метаболічну активність клітин або рівень диференціювання і, відповідно, транскрипцію генів рибосомної РНК, які кодують рибосомні білки. Оскільки структурно-функціональні зміни ядерець є важливим компонентом реакції клітин на стрес і зумовлюють їх адаптацію до зовнішніх впливів, ЯІ може бути об'єктивним діагностичним маркером активності трансляційного апарату. Встановлено тенденцію до збільшення ЯІ у новонароджених дівчаток зі ЗВУР порівняно із здоровими новонародженими (відповідно  $4,62 \pm 0,44$  та  $4,48 \pm 0,34$  %), а у новонароджених хлопчиків зі ЗВУР навпаки даний показник достовірно менший в 1,3 рази ніж у здорових новонароджених (відповідно  $3,48 \pm 0,31$  та  $4,43 \pm 0,43$  %). Зниження активності ампліфікації рибосомних генів закономірно зіставляється зі пригніченням регуляторних сайтів Х хромосоми у хлопчиків.

Функціональна активність геному залежить і від стану каріолеми, з якою з'єднується ДНК для наступної деспіралізації. Тому морфологічні зміни компонентів ядра впливають на конденсацію хроматину і транскрипцію. Закономірною була тенденція до зростання частоти ПЯ у всіх новонароджених із ЗВУР порівняно з такою у здорових новонароджених у дівчаток (відповідно  $11,48 \pm 0,70$  та  $10,38 \pm 0,69$  %) і хлопчиків (відповідно  $10,14 \pm 0,95$  та  $8,67 \pm 0,73$  %).

Таблиця

#### Каріологічні показники нейтрофільних гранулоцитів новонароджених ( $M \pm m$ , $n=30$ )

Індекси	Групи обстежених			
	дівчатка		хлопчики	
	Здорові новонароджені	ЗВУР	Здорові новонароджені	ЗВУР
хроматизації, ум. од.	$0,98 \pm 0,01$	$0,95 \pm 0,02^*$	$0,97 \pm 0,01$	$0,95 \pm 0,02$
статевого хроматину, %	$17,29 \pm 1,27$	$14,38 \pm 1,21^*$	$1,33 \pm 0,13$	$3,14 \pm 0,57^*$
нуклеолярний, %	$4,48 \pm 0,34$	$4,62 \pm 0,44$	$4,43 \pm 0,43$	$3,48 \pm 0,31^*$
патологічних ядер, %	$9,38 \pm 0,29$	$11,48 \pm 0,25^*$	$8,47 \pm 0,33$	$10,14 \pm 0,52^*$

Примітки: 1. \* - достовірна різниця, порівняно із здоровими новонародженими,  $p < 0,05$ .

Підтвердженням епігенетичних показників, зокрема посилення оптичної щільності хроматину НГПК можуть бути дані ультраструктури цих клітин у новонароджених зі ЗВУР. У дітей зі ЗВУР на плазмолемі нейтрофілів є численні мікроворсини, кількість і розміри яких збільшуються при підвищенні активності цих клітин. Органели в нейтрофільних гранулоцитах розвинені слабо: мітохондрій небагато, комплекс Гольджі невеликий, трапляються окремі цистерни ендоплазматичної сітки, включення глікогену і ліпідів. Характерною особливістю є наявність в цитоплазмі гранул, які мають круглу чи овальну форму і високу електронну щільність. Ядра нейтрофільних гранулоцитів складається з кількох сегментів з перевагою гетерохроматину порівняно з ядрами клітин здорових новонароджених дітей. Нами встановлено, що серед нейтрофілів переважало з'єднання гетерохроматину з каріолемою на всьому протязі, хоча

траплялись ділянки каріолеми вільні від гетеро хроматину для можливої деспіралізації. Відмічалась вакуолізація ядра, окремі вакуолі були зв'язані з перинуклеарним простором (рис.).

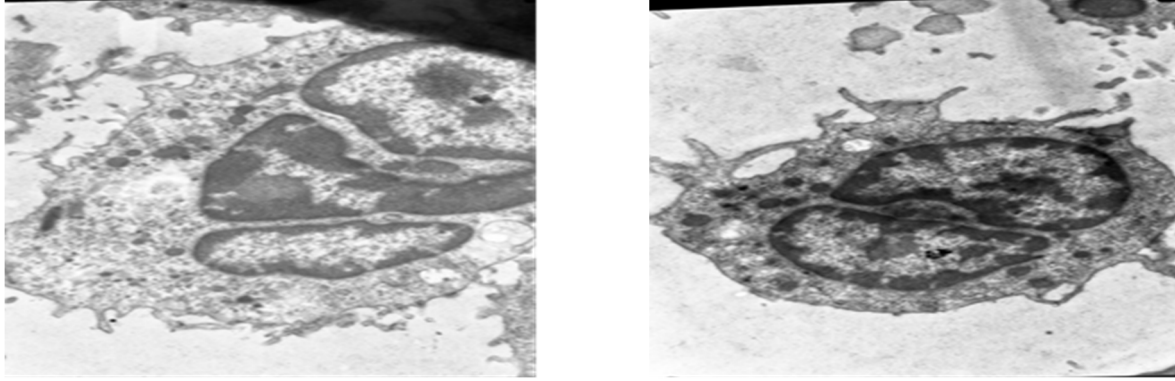


Рис. Ультраструктура нейтрофільних гранулоцитів пуповинної крові новонародженого Н. зі ЗВУР 36.: x 12000. 1 – ворсини плазмолемі нейтрофілів, 2 – гетерохроматин з'єднаний з каріолемою, 3 – мікровезикули пов'язані з цитолемою, 4 – мітохондрії.

Для виявлення особливостей підтримання функціональної єдності всієї системи реалізації спадкової інформації проведено кореляційний аналіз між усіма отриманими показниками. Особливість підтримання функціональної єдності всієї системи реалізації спадкової інформації полягає в оберненому зв'язку між IX та HI у дівчаток із ЗВУР ( $r = -0,4$ ,  $P < 0,001$ ). Характерним для хлопчиків є наявність позитивної кореляції між IX та HI ( $r = 0,2$ ,  $P < 0,001$ ), яка перевищує таку у здорових новонароджених у 2,5 рази ( $r = 0,07$ ,  $P < 0,001$ ). Позитивні кореляції середньої сили ( $r = 0,5$ ,  $P < 0,001$ ) між IX і CX у дівчаток із ЗВУР засвідчують оптимальний механізм регуляції транскрипції через активацію генів X-хромосоми. У хлопчиків цієї ж групи встановлено порушення контролю транскрипції, що доводять позитивні слабкі кореляції між IX та CX. На відміну, у здорових новонароджених вже в перші дні життя відбувається формування залежності I етапу експресії генів від регуляторних сигналів генів X-хромосоми. Це виявляється кореляціями середньої сили -позитивними у дівчаток і від'ємними у хлопчиків. Цікавим виявився факт наявності позитивної кореляції між IX та ПЯ у новонароджених хлопчиків зі ЗВУР ( $r = 0,7$ ;  $P < 0,001$ ) і у дівчаток контрольної групи ( $r = 0,3$ ;  $P < 0,001$ ). Цитологічно це проявляється зростання кількості патологічних ядер з поревагою еухроматину. Навіть при глибоких інвагінаціях каріолеми в багатьох ядрах в периферійних ділянках каріоплазми реєструвалися зниження щільності хроматину. Особливістю функціонального стану геному у дітей із ЗВУР є порушення регуляторних взаємовідносин між активністю синтезу рРНК (ЯІ) і CX. У здорових новонароджених і хлопчиків із ЗВУР відмічено позитивні кореляції середньої сили між HI та CX ( $r = 0,3$ ;  $P < 0,001$ ), які вказують на збереження контролю ампліфікації генів рРНК X-хромосоною вже в перші дні життя. Об'єктивним критерієм ступеня порушення структури хромосомного апарату НГПК у новонароджених із ЗВУР є збільшення частоти клітин з мікроядрами у дівчаток ( $1,02 \pm 0,03$  %) та хлопчиків ( $1,05 \pm 0,04$  %) порівняно з такими у здорових новонароджених (відповідно  $0,12 \pm 0,06$  та  $0,23 \pm 0,05$  %).

### Висновок

Комплекс каріологічних показників інтерфазних ядер НГПК об'єктивно відображає особливості функціонального стану спадкового апарату новонароджених. Виявлені зміни ФСГ нейтрофільних гранулоцитів засвідчують єдність генетичних та епігенетичних механізмів контролю структурного і функціонального аспектів гомеостазу в процесі росту і розвитку дитячого організму.

*Перспективи подальших досліджень* полягають у вивченні епігенетичних механізмів при різних патологічних станах у дітей у взаємозв'язку із структурними змінами спадкового апарату.

### Список літератури

- Hodovanets Yu. D. Platsentarna nedostatnist: dosvid likuvannya, osoblyvosti adaptatsii novonarodzhennykh ditei / Yu. D. Hodovanets, S. Ye. Kosilova // Klinichna ta eksperymentalna patolohiia. – 2008. – Т. 5, No. 4. – S. 21–24.
- Koryakov D. E. Modifikatsii gistonov i regulyatsiya raboty hromatina / D.E Koryakov // Genetika. – 2006. – Т.42, No. 9. – S. 1170 – 1185.
- Kovalchuk L. Ye. Osoblyvosti epihenetychnykh modyfikatsii henomu neutrofilnykh hranulotsytiv peryferiinoi krovі ditei Prykarpattia / L. Ye. Kovalchuk, Z. R. Kocherha, R. I. Bahrynovskiy // Halytskyi likarskyi visnyk. – 2008, No.3. – S. 40 – 42.
- Lapach S. N. Osnovnyie printsipy primeneniya statisticheskikh metodov v klinicheskikh ispytaniyah / S.N. Latach, A.V. Gubenko, P.N. Babich // – K.: MORION, - 2002. – 160 s.

5. Lebedev I. N. Epigeneticheskie aspekty bezopasnosti vspomagatelnykh reproduktivnykh tekhnologiy / I. N. Lebedev, V. P. Puzyrev // Genetika. – 2007. – T.43, No.9. – S. 1157– 1171.
6. Patent No. 26789 u 2007 04785 Cherniuk N.V., Kovalchuk L.Ye, Paliichuk I.V. Zaiavl. 28.04.2007; opub. 10.10.2007. Sposib rannoi diahnostyky funktsionalnoho stanu henomu neitrofilnykh hranulotsytiv peryferiinoi krovi u khvorykh na khronichne obstruktyvne zakhvoriuvannia lehen.
7. Yaniuta S. M. Stan systemy-maty-platsenta-plid pry zatrymtsi rozvytku ploda za danymy ultrazvukovoho doslidzhennia / S. M. Yaniuta, O. I. Zhdanovych, T. V. Kolomiichenko [ta in.] // Perynatolohiya y pedyatryia. – 2008. – No. 2 (34). – S. 51 –53.
8. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory / A. Bird // Genes Dev. – 2002. – V. 16. – P.6 – 21.
9. Lachner M. An epigenetic road map for histone lysine methylation / M.Lachner, R.J.O’Sullivan, T. Jenuwein // J. Cell Sci. – 2003. – V. 116. – P. 2117–2124.
10. Sims R.J. Histone lysine methylation; a signature for chromatin function / R.J.Sims, K. Nishioca, D. Reinberg // Trends Genet. - 2003. – V. 19. – P. 2117–2124.

## Реферати

### ЗНАЧЕНИЕ КАРИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ИСЛЕДОВАНИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ КОНТРОЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕНОМА НОВОРОЖДЕННЫХ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

Кочерга З. Р.

Для определения вклада генетического фактора в задержку внутриутробного развития плода обследованы 75 новорожденных, возрастом 1-3 дня: 30 новорожденных с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР) и 35 здоровых новорожденных детей, из них - 33 девочки и 32 мальчика. Установлена активность функционального состояния генома и микроядерный индекс нейтрофильных гранулоцитов периферической крови на разных этапах реализации наследственной информации. Анализ индексов хроматизации, полового хроматина, ядрышкового и патологических ядер обнаружил нарушение иммуногенетического статуса новорожденных из ЗВУР в сравнении с здоровыми детьми. Выявленные нами изменения ФСГ нейтрофильных гранулоцитов свидетельствует обобщность генетических и эпигенетических механизмов контроля структурного и функционального аспектов гомеостазу в процессе роста и развития детского организма.

**Ключевые слова:** функциональное состояние генома, нейтрофильные гранулоциты, задержка внутриутробного развития.

Статья надійшла 23.02.2017 р.

### THE IMPORTANCE OF KARYOLOGICAL INDICES FOR THE STUDY OF EPIGENETIC CONTROL MECHANISMS OF FUNCTIONAL GENOME ACTIVITY IN NEWBORNS WITH INTRAUTERINE GROWTH-RESTRICTION

Kocherha Z. R.

75 newborns aged 1 to 3 days were examined in order to determine the impact of genetic factors on intrauterine growth retardation: 30 newborns with IUGR and 35 healthy newborns, among them- 33 girls and 32 boys. Activity of genome functional state and micronucleus index of peripheral blood neutrophilic granulocytes at different stages of genetic information realization have been established. Taking into account the indices of chromatinization, sex chromatin, nucleolar indices and indices of morphologically altered nuclei the abnormalities of immunogenetic status have been found in newborns with IUGR, as compared to healthy ones. Incoordination between the activity of RNA synthesis (nucleolar index) and sex chromatin was the diagnostic factor of transcription-translation apparatus dysfunction in newborn girls with IUGR.

**Key words:** genome functional state, neutrophilic granulocytes, intrauterine growth retardation.

Рецензент Старченко І.І.

УДК 611. 843. 1: 615. 212. 7 ] “ 43 = 06 ”

Е. В. Пальтов, І. В. Челпанова, В. Б. Фік, Х. А. Вільхова, Х. А. Курис, Ю. Я. Кривко  
Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, м. Львів,

### ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ШАРАХ СІТКІВКИ ЧЕРЕЗ ШІСТЬ ТИЖНІВ ОПІОЇДНОГО ВПЛИВУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

У представленній нами роботі була поставлена мета вивчити патоморфологічні прояви ангіо та нейроретинопатій в результаті хронічного впливу терапевтичних доз опіоїдного анальгетика. Поставлена мета була досягнута за допомогою використання гістологічної методики візуалізації сітківки. Гістологічні препарати готували за загальноприйнятою методикою з використанням барвників гематоксилін, еозин, та (азан) за методикою Гайденгайна. Результати дослідження у майбутньому дозволять сформувати патоморфологічну базу, яка може бути використана з метою проведення порівняльної характеристики. Що до процесів динаміки наростання патоморфологічних змін у шарах сітківки під час короткотривалого та довготривалого впливу малих доз опіоїдів. Вказане вище в подальшому надасть можливість розробити методи оптимальної корекції ангіо та нейроретинопатій, які виникли в результаті опіоїдного впливу.

**Ключові слова:** опіоїд, сітківка, шур.

Робота є фрагментом НДР «Структурна організація, ангіоархітектоніки та антропометричні особливості органів у внутрішньо та позаутробному періодах розвитку, за умов екзо – та ендопатогенних факторів», номер держреєстрації 0115U000041.

Останні роки досить велика кількість публікацій висвітлює проблему неконтрольованого вживання сильнодіючих та психотропних препаратів [1, 13]. Зокрема дослідження стосуються наслідків їх негативного впливу в результаті довготривалого вживання та дифдіагностики цих наслідків в залежності від походження препарату (опіоїди медикаментозного та сурогатного кустарного походження) [6, 14]. Незважаючи, що у літературі існують повідомлення про