

УДК: 616.89-008.454-053.6:576.316

Сравнение уровня спонтанного мутагенеза у детей обоего пола с депрессивными расстройствами Інас Гхассан Свідан

*Государственное учреждение «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины»
(Харьков, Украина)
Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
Багдадский университет, Научный колледж (Ирак)
iozdp@ukrpost.ua*

Изучено состояние хромосомного аппарата у больных обоего пола с депрессивными расстройствами. Не выявлено значимых различий в частоте спонтанного уровня хромосомных нарушений у девочек (12,60%) и мальчиков (13,59%) с депрессией, однако установлено существенное повышение частоты одиночных и парных фрагментов в кариотипе мальчиков ($p < 0,05$); удлинения центромер хромосом 7, 10, 12 группы С и делеции короткого плеча в кариотипе девочек ($p < 0,05$). При сравнении частоты нарушений хромосом у больных девочек и мальчиков с частотой нарушений хромосомного аппарата у здоровых сверстников выявлено значимое увеличение нарушений хроматидного, хромосомного и геномного типов.

Ключевые слова: депрессивные расстройства, девочки, мальчики, хромосомы, аберрации.

Зіставлення рівня спонтанного мутагенезу у дітей обох статей з депресивними розладами Інас Гхассан Свідан

Досліджено стан хромосомного апарату у хворих обох статей з депресивними розладами. Не виявлено значущих відмінностей у частоті спонтанного рівня хромосомних порушень у дівчат (12,60%) і хлопців (13,59%) з депресією, однак встановлено суттєве підвищення частоти одиночних і парних фрагментів у групі хлопців ($p < 0,05$); подовження центромер хромосом 7, 10, 12 групи С і делеції короткого плеча в групі дівчат ($p < 0,05$). При порівнянні частоти порушень хромосом у хворих дівчат і хлопців з частотою порушень хромосомного апарату у здорових однолітків виявлено значуще збільшення порушень хроматидного, хромосомного і геномного типів.

Ключові слова: депресивні розлади, дівчата, хлопці, хромосоми, аберрації.

Comparison of spontaneous mutagenesis level in children of both sexes with depressive disorders Enass Ghassan Sweedan

The state of the chromosome apparatus was studied in patients of both sexes with depressive disorders. No significant differences in the frequency of spontaneous level of chromosomal abnormalities have been revealed in girls (12.6%) and in boys (13.59%) with depression, but a significant increase in the frequency of single and paired fragments has been registered in the karyotype of the boys ($p < 0.05$) alongside with an elongation of centromeres of chromosomes 7, 10, 12 (group C) and deletion of the short arm in the karyotype of the girls ($p < 0.05$). A comparison between the frequency of chromosomal abnormalities in girls and boys with depression and their frequency in the age-matched healthy children has revealed a significant increase in the disorders of chromatid, chromosome and genome types.

Key words: depressive disorders, girls, boys, chromosomes, aberrations.

Введение

Депрессивные расстройства (ДР) в детском и подростковом возрасте возникают вследствие различных причин: социо-демографических, семейных, психологических, тяжелых соматических заболеваний (сахарного диабета, ревматоидного артрита, системной красной волчанки и др.) и многих других. Причем частота этих нарушений существенно возрастает в молодом возрасте, что позволяет считать данную проблему государственной.

Особый интерес вызывают работы, посвященные состоянию хромосомного аппарата у больных

с депресивними состояниями. Следует отметить, что в Украине эти исследования не проводились. В зарубежных исследованиях представлены данные, касающиеся мутаций различных генов во многих хромосомах – 1, 2, 3, 4, 11, 12, 15, 18, X (Abkevich et al., 2003; Hamilton, 2011; Pergadia et al., 2011), что позволяет авторам делать вывод о необходимости проведения углубленных исследований в изучении данного вопроса.

Интересные данные получены Verhoeven et al. (2013) при исследовании теломерных участков хромосом у больных со значительными депрессивными нарушениями. Авторы установили уменьшение теломерных участков хромосом, которые защищают концы ДНК от повреждающего действия ферментов эндонуклеаз и обеспечивают взаимодействие концов хромосом с внутриядерным матриксом, то есть обеспечивают стабильность хромосом, что, вполне вероятно, может приводить к выраженным нарушениям хромосомного аппарата у больных с депрессиями, а возможно – и к формированию самих депрессивных состояний. Кроме того, высокий уровень хромосомных нарушений у больных с ДР может оказывать негативное влияние на их репродуктивную функцию в будущем, в случае возникновения этих нарушений в детском и подростковом возрасте. Вышеизложенное и явилось основанием для проведения данного исследования.

Цель работы – оценка спонтанного уровня хромосомных нарушений в лимфоцитах периферической крови детей и подростков обоего пола с депрессивными расстройствами.

Материалы и методы исследования

Цитогенетическое исследование проведено у 81 пробанда обоего пола с депрессивными расстройствами (40 девочек и 41 мальчика) и 52 здоровых сверстников (33 девочек и 19 мальчиков) в возрасте от 7 до 17 лет, обследованных в ГУ «ИОЗДП НАМН Украины». Диагноз депрессивного расстройства установлен на основании клинико-психопатологического и психологического обследования больных в отделении психиатрии Института.

Культирование лимфоцитов периферической крови (ЛПК) проводилось по стандартной схеме (Зерова-Любимова, Горовенко, 2003). Препараты окрашивались с использованием гомогенного и дифференциального (CBG и GTG) окрашивания. Всего проанализировано 6966 метафазных пластинок у больных с депрессией (3910 – у девочек, 3956 – у мальчиков) и 4607 пластинки у здоровых сверстников (2964 – у девочек, 1643 – у мальчиков).

Метафазные пластинки изучались с помощью бинокулярного микроскопа Leica CME (Австрия), окуляр 10×18, объектив 100×, бинокулярная насадка 1,25×.

Статистические расчеты выполнены на PC с использованием прикладного пакета программ Excel, «SPSS Statistics 17,0». Для выявления значимости различий между сравниваемыми показателями использовали критерий Стьюдента и χ^2 (Атраментова, Утевская, 2008).

Результаты и обсуждение

Согласно полученным данным, частота хромосомных нарушений в общей группе больных с депрессией составляла 13,1%, что почти в 7 раз превышало частоту хромосомных нарушений у здоровых сверстников (Багацкая, Свидан Инас, 2012).

Общая частота всех нарушений хромосом у девочек с ДР составила 12,60%; у мальчиков – 13,59%, что не имело статистически значимых различий. В лимфоцитах периферической крови, как у девочек, так и мальчиков регистрировались аберрации хроматидного, хромосомного и геномного типов.

Сравнительный анализ уровня нарушений хромосом у больных обоего пола показал наличие статистически значимых различий в частоте аберраций хромосомного типа за счет увеличения числа парных фрагментов в группе мальчиков (2,50% у мальчиков против 1,84% у девочек, $\chi^2=3,71$, $p<0,05$) и удлинения центромер хромосом 7, 10, 12 группы C в группе девочек (1,20% у девочек против 0,81% у мальчиков, $\chi^2= 6,47$, $p<0,05$).

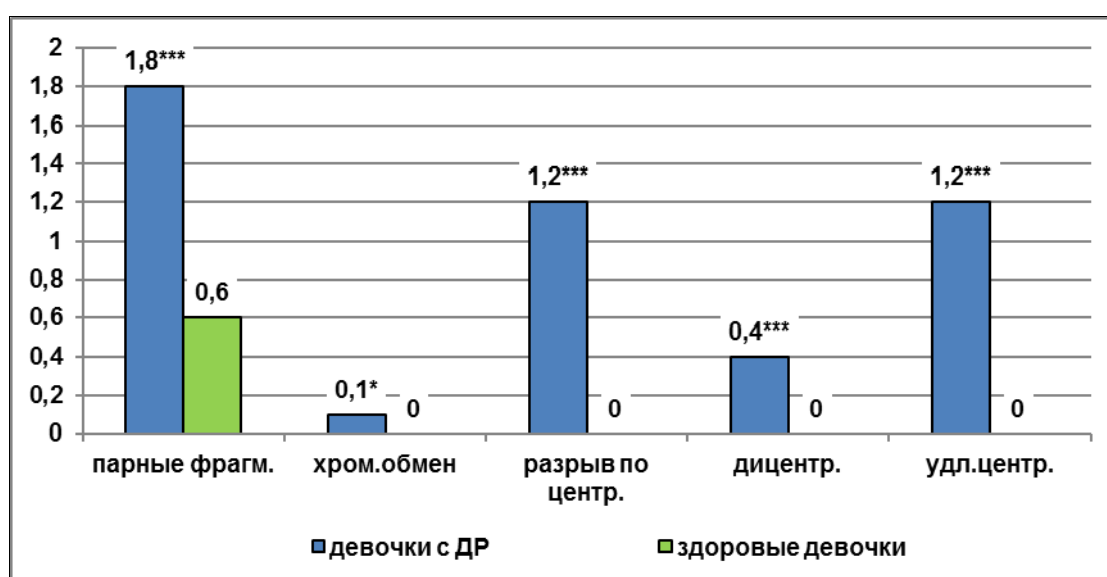
Среди аберраций хроматидного типа преобладали одиночные фрагменты (4,88% у мальчиков против 3,84% у девочек, $\chi^2=4,76$, $p<0,05$) и делеции короткого плеча (1,18% у девочек против 0,86% у мальчиков, $\chi^2=4,51$, $p<0,05$). Все другие структурные аберрации хромосом встречались практически с одинаковой частотой, вместе с тем, в кариотипе двух больных девочек регистрировались кольцевые хромосомы (0,05%), которые отсутствовали в кариотипе больных мальчиков; у одного мальчика выявлялась транслокация короткого плеча на длинное плечо (p/q) хромосомы из группы C. Среди нарушений геномного типа, которые расцениваются как нестабильность генома, встречалось такое

редкое явление, как эндоредупликация хромосом в ЛПК у двух больных мальчиков (0,05%), в то время как у девочек таких нарушений не наблюдалось.

Таким образом, результаты сравнительного анализа, проведенного в группах девочек и мальчиков с ДР, свидетельствуют о наличии незначительных различий в частоте aberrаций хроматидного и хромосомного типов, что позволяет в дальнейшем объединить данные, полученные у лиц обоего пола.

Сравнение частоты хромосомных мутаций в кариотипе больных и здоровых девочек показало достоверное увеличение общего уровня нарушений хромосом (12,61% у больных девочек против 1,69% у здоровых сверстниц, $p < 0,001$), а также aberrаций хромосомного типа: парных фрагментов, хроматидных обменов, удлинения и разрывов по центромере, дицентрических хромосом у девочек с депрессией (рис. 1).

Такие нарушения хромосомного типа, как хроматидные обмены, дицентрические хромосомы, удлинение и разрывы по центромере у здоровых девочек не встречались вообще, что свидетельствует о высокой стабильности их генома.

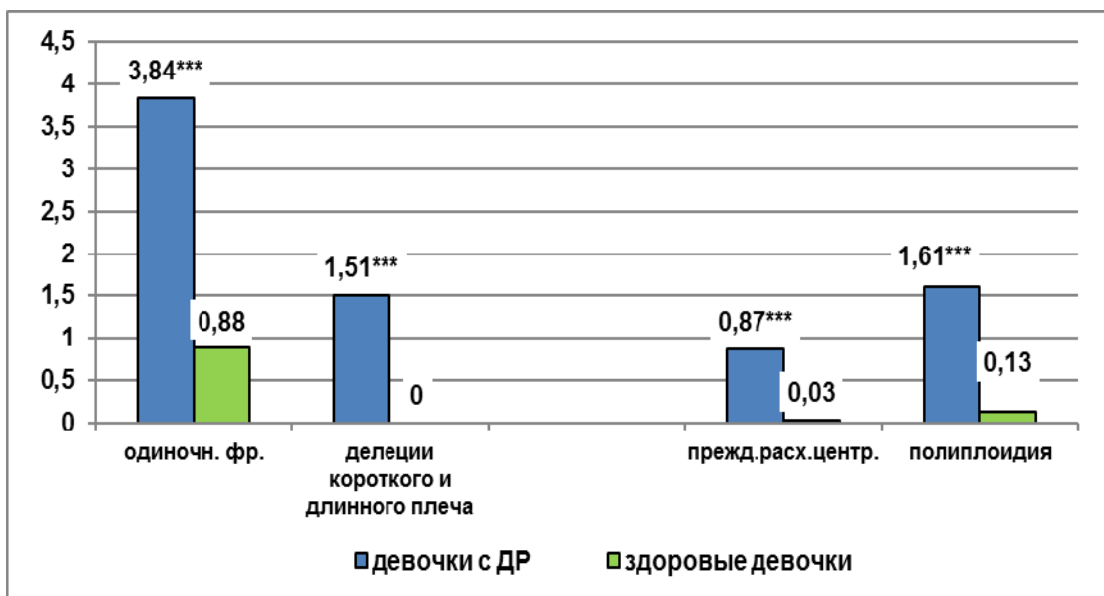


Примечание: достоверность различий: *** – $p < 0,001$.

Рис. 1. Сравнительная частота aberrаций хромосомного типа у девочек с депрессией и здоровых сверстниц, %

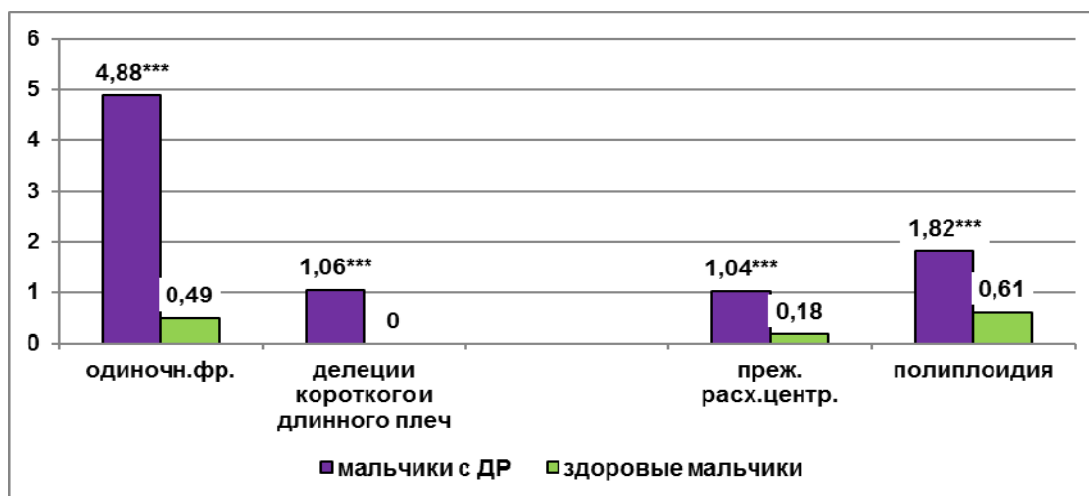
Среди aberrаций хроматидного типа у девочек с ДР значимо чаще встречались одиночные фрагменты (3,84% у больных девочек против 0,88% у здоровых сверстниц, $p < 0,001$), делеции короткого и длинного плеч (1,51% и 0,0% соответственно, $p < 0,001$) хромосом. Нарушения геномного типа были представлены преимущественно преждевременным расхождением центромер (0,87% и 0,03% соответственно, $p < 0,001$) и полиплоидией (1,61% и 0,13% соответственно, $p < 0,001$) с достоверным превалированием данных нарушений в кариотипе больных девочек (рис. 2).

Общий уровень хромосомных нарушений в кариотипе больных мальчиков в 6,8 раз превышал частоту нарушений хромосом у здоровых сверстников (13,59% против 2,0% у здоровых мальчиков, $p < 0,001$). Aberrации хроматидного типа были представлены одиночными фрагментами (4,88% у больных мальчиков против 0,49% у здоровых сверстников, $p < 0,001$), делециями короткого и длинного плеч (1,06% и 0,0% соответственно, $p < 0,001$) хромосом. Нарушения геномного типа включали такие нарушения, как преждевременное расхождение центромер (1,04% у больных мальчиков против 0,18% у здоровых сверстников, $p < 0,001$) и полиплоидию (1,82% и 0,61% соответственно, $p < 0,001$) (рис. 3). Также у мальчиков с депрессией регистрировались такие нарушения, как эндоредупликация и нерасхождение хромосом при полном отсутствии аналогичных нарушений у здоровых мальчиков.



Примечание: достоверность различий: *** – $p < 0,001$.

Рис. 2. Сравнительная частота аберраций хроматидного и геномного типов у девочек с депрессией и здоровых сверстниц, %



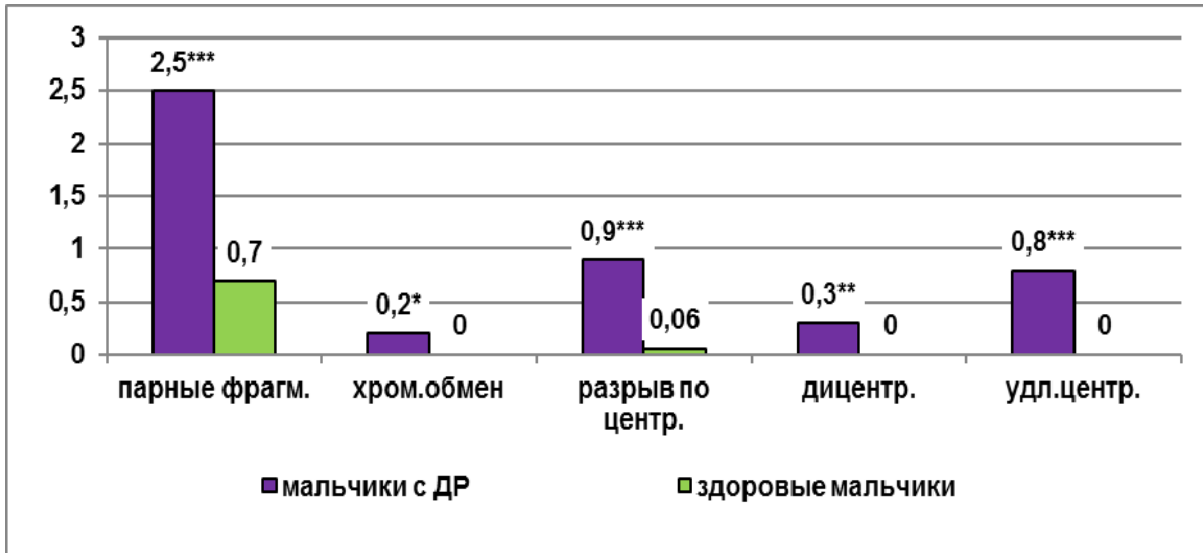
Примечание: достоверность различий: *** – $p < 0,001$.

Рис. 3. Сравнение частоты аберраций хроматидного и геномного типов у мальчиков с депрессией и здоровых сверстников, %

Среди структурных нарушений хромосом установлены значимые различия в частоте парных фрагментов, хроматидных обменов, дицентриков, удлинения и разрывов по центромере в ЛПК мальчиков с депрессией в сравнении со здоровыми сверстниками (рис. 4). У одного больного мальчика выявлена транслокация $t(8,11)(p23;q24)$.

Следовательно, у мальчиков и девочек с депрессией выявлены существенные различия в частоте нарушений хромосомного, хроматидного и геномного типов в сравнении с частотой аналогичных нарушений у здоровых сверстников, что свидетельствует о выраженной нестабильности генома больных детей. Установлено, что нестабильные хромосомные аберрации – дицентрические и

кольцевые хромосомы, фрагменты – приводят к гибели клеток, а стабильные – транслокации, инсерции, как известно, сопровождают онкогенез и могут оказывать влияние на жизненно важные функции клеток (Мазник, 2004). В кариотипе одного мальчика с депрессией выявлена транслокация $t(8,11)(p23;q24)$.



Примечание: достоверность различий: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Рис. 4. Сравнительная частота аберраций хромосомного типа у мальчиков с депрессией и здоровых сверстников, %

Возникновение таких нарушений геномного типа, как полиплоидия возможно при индукции множественных повреждений ДНК, вследствие чего происходит увеличение стадии G_2 за счет их репарации, при этом уменьшается концентрация белка циклина, участвующего в запуске перехода клетки к митозу, и в результате из клеточного цикла исключается стадия митоза и происходит прямой переход от стадии G_2 к G_0 и в последующем к G_1 , что приводит к формированию полиплоида. А второй вариант формирования полиплоидных клеток – результат межклеточного слияния (Ковалева, 2008).

Выводы

В результате цитогенетического анализа, проведенного у девочек и мальчиков с депрессивными расстройствами, установлен уровень хромосомных нарушений в ЛПК, который существенно превышал частоту хромосомных нарушений в кариотипе здоровых лиц. Выявлены значимое повышение частоты одиночных и парных фрагментов в ЛПК мальчиков ($p < 0,05$); удлинения центромер хромосом 7, 10, 12 группы С и делеции короткого плеча в ЛПК девочек ($p < 0,05$). При сравнении частоты нарушений хромосом в кариотипе больных девочек и мальчиков с частотой аналогичных нарушений у здоровых сверстников выявлено значимое увеличение аберраций хроматидного (одиночных фрагментов, делеции короткого и длинного плеча) и хромосомного (парных фрагментов, удлинения центромеры и разрывов по центромере, хроматидных обменов и дицентрических хромосом) типов, а также нарушений геномного (преждевременного расхождения центромер и полиплоидии) типа.

Благодарности

Автор выражает благодарность своему научному руководителю доктору биологических наук, профессору Багацкой Наталии Васильевне за помощь в проведении исследования, консультации по цитогенетическому анализу и научное руководство.

Список литературы

- Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии: учебник для студ. высш. уч. зав. – Горловка: Ліхтар, 2008. – 248с. /Atramentova L.A., Utevskaia O.M. Statisticheskiye metody v biologii: uchebnik dlya stud. vyssh. uch. zav. – Gorlovka: Likhtar, 2008. – 248s./
- Багацкая Н.В., Свидан Инас Гх. Уровень хромосомных aberrаций у детей и подростков с депрессивными расстройствами // Вісн. ХНУ імені В.Н.Каразіна. Серія «Біологія». – 2012. – Вип.15, №1008. – С. 81–85. – (Серія Біологія). /Bagatskaya N.V., Svidan Inas Gh. Uroven' khromosomnykh aberratsiy u detey i podrostkov s depressivnymi rasstroystvami // Visn. KhNU imeni V.N.Karazina. Seriya "Biologiya". – 2012. - Vyp.15, №1008. – S. 81–85./
- Зерова-Любимова Т.Е., Горovenko Н.Г. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: методичні рекомендації. – К., 2003. – 25с. /Zerova-Lyubimova T.E., Gorovenko N.G. Tsytogetnychni metody doslidzhennya khromosom lyudyny: metodychni rekomendatsii. – K., 2003. – 25s./
- Ковалева О.А. Цитогенетические аномалии в соматических клетках млекопитающих // Цитология и генетика. – 2008. – №1. – С. 58–72. /Kovaleva O.A. Tsitogeneticheskiye anomalii v somaticheskikh kletkakh mlekopitayushchikh // Tsitologiya i genetika. – 2008. – №1. – S.58–72./
- Мазник Н.А. Роль факторов нерадиационной природы в формировании цитогенетических эффектов у эвакуантов из 30-км зоны Чернобыльской АЭС // Цитология и генетика. – 2004. – №6. – С. 33–44. /Maznik N.A. Rol' faktorov neradiatsionnoy prirody v formirovanii tsitogeneticheskikh effektov u evakuantov iz 30-km zony Chernobyl'skoy AES // Tsitologiya i genetika. – 2004. – №6. – S. 33–44./
- Abkevich V., Camp N.J., Hensel Ch.H. et al. Predisposition locus for major depression at chromosome 12 q22-12q23.2 // Am. J. Genet. – 2003. – Vol.73. – P. 1271–1281.
- Hamilton S.P. A new lead from genetic studies in depressed siblings: assessing studies of chromosome 3 // Am. J. Psychiatry. – 2011. – №168 (8). – P. 783–789.
- Pergadia M.L., Glowinski A.L., Wray N.R. et al. A 3p26-3p25 genetic linkage finding for DSM-IV major depression in heavy smoking families // Am. J. Psychiatry. – 2011. – Vol.168 (8). – P. 848–852.
- Verhoeven J.E., Révész D., Epel E.S. et al. Major depressive disorder and accelerated cellular aging: results from a large psychiatric cohort study // Molecular Psychiatry. – 2013. – P. 1–7.

Представлено: Л.А.Страшок / Presented by: L.A.Strashok
Рецензент: А.В.Некрасова / Reviewer: A.V.Nekrasova
Подано до редакції / Received: 01.11.2013