

Академія наук України
Інститут експериментальної патології, онкології
і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького

На правах рукопису

НЕСІНА Ірина Петрівна

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЛІМФОЦИТІВ
ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ
У ХВОРИХ НА ГІПЕРПЛАЗІЮ ТА РАК ЕНДОМЕТРІЮ

14.00.14 — онкологія

Автореферат дисертації на здобуття вченого ступеня
кандидата біологічних наук

Київ — 1993

Робота виконана в Інституті експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького АН України.

Наукові керівники: засл. діяч науки України, доктор медичних наук, професор ГАНІНА К. П.,
доктор медичних наук ПОЛІЩУК Л. З.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук БАРИЛЯК І. Р.,
кандидат біологічних наук
ДЬОМІНА Е. А.

Провідна установа: Київський інститут удосконалення лікарів МОЗ України.

Захист відбудеться «27» жовтня 1993 р. о 13
год. 30 хв. на засіданні спеціалізованої ради Д 016.38.01
в Інституті експериментальної патології, онкології та радіо-
біології ім. Р. Є. Кавецького АН України за адресою:
252022 Київ 22, вул. Васильківська, 45.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці інституту.

Автореферат розісланий «22» серпня 1993 р.

ЛНБ України ім. В. Стефаника



00813994 (Y)

ЛНБ України
спеціалізованої ради

ЯНІШ Ю. В.

ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

AB-28, 362

Актуальність проблеми. Багаточисленними дослідженнями останніх років показано, що більшість відомих у теперішній час пухлин належать до мультифакторіальних захворювань, в генезі яких беруть участь фактори не тільки зовнішнього середовища, але й генетичні /Р.Ф.Гарькавцева з спіавт., 1990; A.G.Knudson, 1977/.

Існують теоретичні розробки, що свідчать про існування високопенетрантних аутосомно-домінантних генів, котрі обумовлюють частіше, ніж у загальній популяції, виникнення ракових пухлин у родичів з однієї сім'ї /N.E.Simpson et al., 1987; J.L.Bos 1989; D.E.Easton, J.Peto, 1990; D.Malkin et al., 1990/.

Виявлення хворих, схильних до розвитку злоякісних пухлин, є важливим завданням сучасної онкології. Рішення цієї проблеми буде сприяти поліпшенню цілеспрямованих профілактичних заходів та виявленню пухлинного процесу ще до його клінічних проявів /М.П.Кулешов з спіавт., 1992; B.A.Ponder, 1990/.

Враховуючи той факт, що в Україні оклалася виключно незадовільна екологічна ситуація та зростає кількість осіб з генетичними порушеннями як результат сполученої дії хімічних та фізичних мутагенів /І.Р.Бариляк, 1992; А.М.Сердж, І.Р.Бариляк, Л.А.Піріг, 1992/, вивчення генетичних маркерів онкозахворювань і схильності до них є перспективним напрямком онкогенетики.

З цієї точки зору безперечно актуальність розширення цитогенетичних і клініко-генеалогічних досліджень в онкології та впровадження їх результатів в практику.

Враховуючи той факт, що між пухлиною і організмом - її носієм існують складні взаємовідносини /Р.Є.Кавецький, 1962; Ю.О.Уманський, В.Г.Пінчук, 1982/, цитогенетичне вивчення лімфоцитів периферичної крові, як ланцюга, крізь який здійснюється ця взаємодія, дозволяє виявити структурні зміни хромосом та визначити стан спадкового апарату клітин не тільки у хворих з пухлинами, але й при передпухлинних процесах.

Використання цитогенетичних методів для викриття генетичних маркерів пухлинного росту та клініко-генеалогічного аналізу рододів для визначення типу спадковості вважається в теперішній час важливим при обстеженні хворих з патологією ендометрію. Це обумовлено тим, що, незважаючи на існуючі успіхи попередження та виявлення цієї патології, епідеміологічні дані свідчать про значний зріст захворювання раком тіла матки, лікування якого не завжди

ефективне /В.М.Мерабішвілі, 1985; О.Б.Войшнарас, А.Є.Присяжнюк, З.П.Федоренко, 1988; R. Jaber, 1988; Хр.Цветанські *et al.*, 1989/.

Все сказане вище стало обґрунтуванням для проведення цього дослідження.

Мета даного дослідження полягає у вивченні цитогенетичних показників у соматичних немалігнізованих клітинах хворих на рак ендометрію.

Для реалізації цієї мети були поставлені завдання:

- вивчити структурні зміни хромосом у лімфоцитах периферичної крові у хворих на гіперплазію та рак ендометрію;
- провести попередні дослідження кількості аберантних хромосом у лімфоцитах у хворих на рак ендометрію після різних видів протипухлинного лікування;
- визначити поліморфізм С-сегментів хромосом 1,9 і 16 в лімфоцитах периферичної крові хворих на рак ендометрію;
- провести порівняльний аналіз змін каріотипу у хворих на рак ендометрію залежно від патогенетичного варіанту пухлинного процесу, його стадії та ступеня диференціювання пухлин;
- зіставити цитогенетичні показники в лімфоцитах хворих на рак ендометрію із сімей з обтяженим і необтяженим анамнезом по онкопатології.

Робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім.Р.Є.Кавецького АН України за темою: ОІ.86.0047140.

Тема дисертації затверджена Ученою радою ІЕНІОР АН України /протокол № 12 від 28 червня 1988 р./.

Наукова новизна Вперше проведено цитогенетичне дослідження лімфоцитів периферичної крові у хворих на рак ендометрію в залежності від онкообтяженості сімейного анамнезу.

Виявлена нестабільність геному лімфоцитів у хворих з атиповою гіперплазією та раком ендометрію, яка полягає у вірогідному збільшенні кількості аберацій хромосом та аберантних клітин у порівнянні з такими у хворих із залозовою гіперплазією ендометрію та у практично здорових жінок.

Показано зменшення розмірів С-сегментів у хромосомах 1,9 та їх збільшення в хромосомі 16 у хворих на рак ендометрію порівняно із здоровими жінками.

Встановлено, що цитогенетичні зміни лімфоцитів периферичної крові більше виражені у хворих із сімей з обтяженим онкоанамнезом.

В лімфоцитах крові хворих на рак ендометрію, які мають родичів з онкопатологією, підвищуються кількість аберантних хромосом, число екстремальних варіантів С-сегментів та співвідношення цих сегментів у 1,9 та 16 хромосомах.

Науково-практичне значення роботи визначається тим, що одержані дані розширюють знання про взаємозв'язок пухлини і організму - її носія. Дані клініко-генеалогічного та цитогенетичного аналізу можуть бути використані в роботі кабінетів клінічної генетики при онкологічних установах для виявлення контингенту осіб генетичного ризику з онкопатологією.

За темою дисертації опубліковані 21 наукова праця та інформаційний лист.

Апробація роботи. Результати дисертаційної роботи були викладені на Першій міській конференції молодих патологоанатомів Української РСР /Київ, 1982/, засіданні міського товариства онкологів /Київ, 1989/, УП и УШ з'їздах онкологів УРСР /Симферополь, 1985, Донецьк, 1990/, Пленумі правління Українського Республіканського товариства патологоанатомів /Запоріжжя, 1991/, II Республіканській науковій конференції з онкогенетики /Полтава, 1983/, УП Всесоюзній нараді "Структура и функція хромосом" /Пущино, 1991/, УІ з'їзді Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. Н.І.Вавилова /Полтава, 1992/.

Апробація роботи відбулася 13 травня 1993 р. на засіданні експертної ради Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є.Кавецького АН України.

Структура та обсяг дисертації. Робота викладена на 152 сторінках машинописного тексту, складається з вступу, огляду літератури, результатів власних досліджень, висновків та списку літератури, який включає 106 джерел вітчизняної та 201 іноземної літератури. Робота ілюстрована 19 таблицями та 20 рисунками.

Основні положення, які виносяться на захист.

1. В лімфоцитах периферичної крові хворих на атипову гіперплазію та рак ендометрію кількість клітин із структурними змінами хромосом вірогідно підвищена порівняно з таким у практично здорових жінок та хворих на залозеву гіперплазію ендометрію.
2. В лімфоцитах периферичної крові хворих на рак ендометрію виявлено зміни розмірів С-сегментів в хромосомах 1,9 та 16 в порівнянні з такими у практично здорових жінок.

3. Цитогенетичні зміни у лімфоцитах периферичної крові хворих на рак ендометрію більше виражені у пацієток з агрегацією пухлинної патології в родоводах, у тому числі із новоутвореннями органів репродуктивної системи.

З М І С Т Р О Б О Т И

Матеріал та методи дослідження. Комплексне дослідження проведено у 131 хворой віком від 25 до 71 року з різною патологією ендометрію, в тому числі 23 хворих на залозеву гіперплазію, 15 - на атипову гіперплазію, 93 - на рак ендометрію. За контроль правильності результати обстеження 15 практично здорових жінок з незмінним менструальним циклом віком від 25 до 54 років.

Пацієнтки перебували на лікуванні у відділенні онкогінекології /керівник науково-дослідного відділення - канд.мед.наук Л.І.Воробйова/ Українського НДІ онкології МОЗ України, частина хворих перебувала на диспансерному обліку в жіночій консультації клінічної лікарні № II м.Киева /зав. - канд.мед.наук В.М.Вінниченко/.

Загальну кількість досліджень та розподіл матеріалу за методами зведено до табл.І.

Таблиця І

Обсяг вивченого матеріалу і методи дослідження

Методи дослідження	Діагноз і кількість досліджень				Всього
	залозева гіперплазія ендометрію	атипова гіперплазія ендометрію	рак ендометрію	контроль	
Клініко-генеалогічний	23	15	93	15	146
Гістолгічний	23	15	93	-	131
Цитогенетичний:					
-каріотип лімфоцитів периферичної крові	3	10	70 /20*/	15	98
проаналізовано метафазних пластинок	170	500	4838 /1362*/	1500	7008
-центромірний гетерохроматин	-	-	23	5	28
проаналізовано метафазних пластинок	-	-	305	82	387

Примітка: /*/ - в тому числі дослідження, проведені у хворих після різних видів лікування

Клініко-генеалогічний аналіз полягав у збиранні генеалогічних та клінічних відомостей: анамнез хвороби і стан менструальної функції, акушерсько-гінекологічний анамнез, відомості про кількість родичів та їх хвороби, в тому числі з різною онкопатологією.

Матеріалом для гістологічного дослідження були шкребки слизової оболонки порожнини матки та післяопераційний матеріал хворих на гіперплазію та рак ендометрію, які підлягали целоїдин-парафіновому проведенню. Гістологічні препарати фарбували гематоксилином і еозином і також проводили на них комбіноване гістохімічне фарбування за І.В.Первозванською /1964/. Морфологічну діагностику здійснювала докт.мед.наук Л.З.Полішук, користуючись гістологічною міжнародною класифікацією пухлин жіночого статевого тракту /ВОЗ, 1975/.

Цитогенетичний аналіз лімфоцитів периферичної крові включав: проведення короткочасного культивування /72 години/ лімфоцитів / P.McCreehead et al. ,1960/ 63 хворих з різною патологією ендометрію до лікування, у 20 хворих на рак ендометрію після різних видів терапії, а також у 15 практично здорових жінок. Фарбування препаратів здійснювали 4,0% розчином азур-еозину за Романовським-Гімза на фосфатному буфері рН 6,8 на протязі 10-15 хвилин. Частина цитогенетичних препаратів піддавали диференційованому фарбуванню для виявлення G-смуг / A.Sumner et al. ,1971/ та центромірного гетерохроматину /C - забарвлення/ /F.Arrighi, T.Hsu /1971/ в модифікації Г.П.Лелікової, Т.Г.Цветкової /1976/. Аналіз хромосом здійснювали за допомогою мікроскопа *Nu* -2E, об'єктив 100^x, масляна імєрсія. У кожної пацієнтки аналізували близько 100 клітин.

Добір метафазних пластинок для аналізу проводили, користуючись методичними вказівками Інституту медичної генетики АМН СРСР /М., 1974/. Хромосоми ідентифікували за Денверською класифікацією з буквеними уточненнями *K.Patau* /1965/, а також з урахуванням міжнародної цитогенетичної номенклатури / *ISCN* ,1978/.

Аналіз хромосом лімфоцитів включав: підрахування числа хромосом в метафазних пластинках, визначення кількості аберантних клітин / у відсотках до загальної кількості досліджених метафаз/; визначення частоти аберацій на одну аберантну клітину і на одну досліджену клітину / в абсолютних числах / та на 100 досліджених клітин. Аберації хромосом характеризували, користуючись вказівками О.Ф.Захарова з співавт. /1982/ та О.В.Севанькаєва /1987/. Враховували, як хроматидні, так і хромосомні аберації. До аберацій хроматидного типу відносили поодинокі фрагменти /хроматидні делеції/,

міжхроматидні обміни. Пробіли відмічали окремо і як хроматидні аберації не враховували. Розрив хромосоми по центромірі вважали за ізохроматидну делецію. До аберацій хромосомного типу відносили парні фрагменти /термінальні делеції/, крапки /інтерстиціальні делеції/, кільцеві хромосоми /ацентричні та центричні кільця/ та міжхромосомні обміни, в результаті яких виникають ди- та поліцентричні хромосоми.

Оцінюючи стан гетерохроматинових блоків, враховували розміри С-хроматину у I,9 та I6 хромосомах, за допомогою напівкількісного методу згідно з рекомендаціями по стандартизації методів обліку поліморфізму хромосом людини, розроблених групом цитогенетиків під керівництвом О.О.Прокоф'євої-Бальговської /1981/. Від кожної хворої аналізували по I5 метафаз.

Величину С-варіантів оцінювали в балах за п'ятибальною системою. Оцінюючи розміри С-варіантів у хромосомі I, візуально визначали відношення довжини С-сегментів до довжини всього плеча, в якому він знаходиться. При цьому було визначено такі градації: I бал - крапковий або дуже маленький сегмент /менший ніж I/5 довжини плеча/;

2 бали - маленький сегмент /близько I/5 довжини плеча/;

3 бали - середній сегмент /близько I/4 довжини плеча/;

4 бали - великий сегмент /близько I/3 довжини плеча/;

5 балів - дуже великий сегмент /не менше ніж I/3 довжини плеча/.

В хромосомах 9 та I6 величину С-сегмента розглядали як відношення його довжини до довжини короткого плеча кожної хромосоми. В балах це виглядало так:

I бал - крапковий або дуже маленький сегмент /близько I/3 довжини короткого плеча/;

2 бали - маленький сегмент /близько I/3 довжини короткого плеча/;

3 бали - середній сегмент /близько I/2 довжини короткого плеча/;

4 бали - великий сегмент /більш I/2 довжини короткого плеча/;

5 балів - дуже великий сегмент /не менше ніж довжина короткого плеча/.

Разом з величиною С-сегмента враховували і його локалізацію.

Інверсії реєстрували, якщо не менше I/3 С-сегмента знаходилось на короткому плечі хромосоми. В хромосомах I,9 і I6 відмічали також наявність гомо- і гетероморфізму гомологів за розмірами і локалізацією гетерохроматинового сегмента.

Маленькі і великі С-сегменти /відповідно I і 4-5 балів/ відносили до екстремальних варіантів. Про ступінь гетероморфізму гомологічних хромосом судили на основі відмінностей довжини С-сегмен-

тів на одну чи більшу кількість умовних одиниць /балів/. Частоту гетероморфізму і виявлених інверсій визначали у відсотках відносно кількості досліджених хромосом. Отриманий в результаті дослідження цифровий матеріал обчислювали методами статистичної обробки, із знаходженням середньої арифметичної та її похибки для абсолютних та відносних величин і критерію вірогідності за Стьюдентом /Л.С.Камінський, 1964/. Вірогідними вважали відмінності при $P < 0,05$.

Результати особистих досліджень та їх обговорення. Клініко-генеалогічне обстеження з'ясувало, що онкологічні захворювання в родовах зустрічались у пробандів як із злоякісними пухлинами, так і з гіперплазіями ендометрію.

При аналізі родоводів 93 пробандів, хворих на рак ендометрію, були отримані відомості про 1304 родичів. В 51 сім'ї серед 697 родичів не виявлено хворих з будь-якою пухлинною патологією, а в 42 сім'ях пробандів, що нараховували 607 родичів, різні злоякісні пухлини зустрічались у 66 осіб. Таким чином, у 45,16% хворих на рак ендометрію в родовах були вказівки на наявність злоякісних пухлин у сім'ях.

Серед пухлинної патології у родичів пробандів /рак ендометрію/ найчастіше зустрічались новоутворення шлунково-кишкового тракту /44,12%/, молочної залози /16,18%/, ендометрію /11,77%/ та інших локалізацій /27,93%/.

Така агрегація пухлинної патології, можливо, свідчить про прояв у деяких проаналізованих сім'ях родинного ракового синдрому /*family cancer syndrom*/. Тому результати нашого клініко-генеалогічного обстеження хворих дають змогу зробити припущення, що виникнення пухлин в сім'ях хворих на рак ендометрію може бути генетично детерміноване.

З урахуванням наведених вище даних має значення вивчення спадкового апарату клітин та цитогенетичних маркерів пухлинного процесу у хворих з гіперплазіями та раком ендометрію.

Аналіз структурних аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові виявив їх значну варіабельність у різних групах обстежених жінок. Аберантні клітини були присутні у всіх хворих на залозеву гіперплазію ендометрію, що в середньому дорівнювало $2,36 \pm 0,37\%$, але їх кількість хоч і мала тенденцію до підвищення в порівнянні з контролем / $0,67 \pm 0,21$ /, однак не перевищувала максимального рівня аберантних клітин у популяції здорових людей /3,00%/.

Середня кількість аберантних лімфоцитів у хворих на атипову гіперплазію та рак ендометрію була майже однакова і дорівнювала відповідно $5,00 \pm 0,47\%$ і $5,21 \pm 0,53\%$, що перевищувало максимальний рівень аберацій в популяції і було достовірно вище порівняно з контролем і показниками у хворих на залозеву гіперплазію ендометрію. Слід відзначити індивідуальну варіабельність числа аберантних клітин у хворих на атипову гіперплазію: рівень аберантних метафаз був невисоким /0-2,0%/ тільки у трьох хворих, а у семи жінок його значення були вище максимального рівня в контролі і коливались у межах 3,33-14,0%.

У хворих на рак ендометрію спостерігалась ще більш виражена варіабельність індивідуальних показників частоти структурних аберацій хромосом. Так, у 12,0% хворих структурних аберацій не виявлено. У 24,0% хворих їх кількість відповідала середньопопуляційній нормі /від 2,0% до 3,0%/, а у 64,0% кількість аберантних клітин була підвищена до 3,75-16,0%. Отже, у більшості хворих на передрак /атипову гіперплазію/ та рак ендометрію виявлено підвищений рівень хромосомних аберацій порівняно з таким у хворих на залозеву гіперплазію та практично здорових жінок.

Ці дані узгоджуються з даними інших дослідників, які також показали підвищення порівняно з контролем частоти структурних змін хромосом у лімфоцитах хворих на рак молочної залози /Т.П.Якимова, Л.А.Самсонова, 1988/, шлуку /R. di Lernia et al., 1987/, легенів /A.Selypes, A.Selypes, 1987; L.Barrios et al., 1990/ і сечового міхура /L.Barrios et al., 1990/.

Механізм появи аберантних клітин у обстежених жінок та інших онкологічних хворих складний і однозначних міркувань по цьому питанню не існує. За даними M.C.Martins, E.J.Lucea /1988/ та F.Hecht, B.R.Hecht /1992/ хромосомна нестабільність у лімфоцитах онкологічних хворих може бути результатом дії неопластичних клонів і/чи/яких-небудь субстанцій кластогенної природи, які походять від самих пухлин. Виникнення структурних аберацій хромосом може бути обумовлене дефектами репарації ДНК хромосом лімфоцитів периферичної крові, у зв'язку з чим підвищується чутливість клітин до ендогенних та екзогенних мутагенних факторів /Г.Д.Засухіна, 1986; Дж.Хоукінс, 1991/. Виникнення хромосомних аберацій може бути також результатом впливу перекисних з'єднань ліпідів, які виділяють імуніцити при імунологічних конфліктах, інактивація яких не відбувається, внаслідок дефектів в антиоксидантній системі клітин /Н.Н.Ільїнський, 1989; L.Emerit et al., 1981/.

Як відмічають І.Я.Беляєв, О.П.Акіф'єв /1988/, О.П.Акіф'єв і Г.О.Худолій /1993/, підвищений рівень аберацій хромосом може бути пов'язаний з існуванням у геномі онкологічних хворих мінорної фракції ДНК, яка складається із великої кількості повторів, що являють собою молекулярну основу специфічних ділянок. Деякі дослідники розглядають нестабільність геному соматичних клітин людини як адаптивну реакцію на вплив факторів навколишнього середовища /Є.П. Гуськов, Т.П.Шкурат, 1989/.

Основними типами структурних аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові у обстежених жінок були поодинокі та парні ацентричні фрагменти, тобто нестабільні аберації хромосом, які разом складала у хворих на атипову гіперплазію 80,77%, а у хворих на рак ендометрію - 92,76%. Крім того, в лімфоцитах хворих на атипову гіперплазію та рак ендометрію спостерігались кільцеві хромосоми /8,90%, а у хворих на рак ендометрію відзначено і дицентричні хромосоми /2,71%. Не зважаючи на явні цитогенетичні зміни хромосом у лімфоцитах хворих на рак ендометрію, не було виявлено будь-яких специфічних пошкоджень хромосом.

При всіх гіперпластичних процесах ендометрію в лімфоцитах крові спостерігались пошкодження хромосом із груп А, В, С та Е, а у хворих на рак - аберації в хромосомах усіх груп, крім групи G.

Аналіз одержаних результатів не виявив залежності частоти абераційних лімфоцитів у хворих на рак ендометрію від патогенетичного варіанту пухлинного процесу, його стадії та ступеня диференціювання пухлин.

Однак нами встановлена вірогідна різниця між кількістю абераційних клітин у хворих на рак ендометрію, які мають здорових родичів /I група/ і родичів з пухлинною патологією /II група/. Середня кількість абераційних метафаз у 29 хворих із I групи складала $4,26 \pm 0,21\%$, а у 31 хворої із II групи - $6,63 \pm 0,57\%$ /табл.2/. Слід зазначити, що кількість абераційних клітин у 5 пробандів /рак ендометрію/, в родовах яких відмічено накопичення пухлинної патології /рак шлунку, молочної залози, ендометрію, кишечнику у трьох та більшої кількості родичів/, була високою і складала $9,63 \pm 0,63\%$. Цей показник достовірно перевищував дані, отримані у пробандів, які не мали хворих родичів / $4,26 \pm 0,21$ / або мали тільки одного родича з онкопатологією / $6,02 \pm 0,51$ /.

Таблиця 2

Кількість структурних аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові хворих на рак ендометрію в залежності від обтяженості сімейного анамнезу з онкопатологією

Групи обстежених	!Число проаналізованих! метафаз	!Число аберацій! рантих! клітин,%	Число аберацій	
			!на I проаналізовану метафазу!	!на I абераційну клітину!
Хворі, які мають здорових родичів	2089	$4,26 \pm 0,21$ 0,0-14,00	0,058	1,359
Хворі, які мають родичів з пухлинною патологією	1387	$6,63 \pm 0,51$ 2,00-16,00	0,072	1,086

Примітка: в чисельнику - середнє значення, у знаменнику - індивідуальні коливання

Таким чином, показано підвищення числа структурних аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові хворих на рак ендометрію з агрегацією пухлинної патології в сім'ях. Останнє пов'язане, можливо, з наявністю спадкової схильності до онкозахворвань і нестабільністю геному лімфоцитів у цих жінок. Це підтверджується даними літератури про цитогенетичні зміни в соматичних немалігнізованих клітинах онкологічних хворих, зокрема у хворих з сімейними формами раку молочної залози, тоді як у пацієнток із спорадичними пухлинами тієї ж локалізації цитогенетичних змін у фібробластах шкіри не виявлено / *H. T. Lynch et al.*, 1984/.

Крім цитогенетичних досліджень лімфоцитів периферичної крові у хворих на рак ендометрію до лікування, 20 хворих були обстежені нами в процесі реабілітації після різних видів терапії. У восьми з них кров була взята безпосередньо після курсу інтенсивного променевого лікування /сумарна доза 24,8 Гр - 30,36 Гр/, а у решти - через 12-28 місяців після лікування, у чотирьох - після операції, у п'яти - після операції з наступним курсом ударної поліхіміотерапії /метотрексат, вінбластин, циклофосфан, 5-фторурацил/, - у трьох після операції з післяопераційним курсом променевого лікування /сумарно 29,9 Гр - 40,12 Гр/.

Результати цитогенетичного аналізу лімфоцитів периферичної крові хворих на рак ендометрію після різних видів лікування демонструють різнобічний ступінь пошкодження хромосомного апарату.

Так, у хворих через 12-28 місяців після операції чи операції з наступним курсом поліхіміотерапії аберантні клітини або не виявлялись, або їх кількість не перевищувала середьопопуляційну норму, причому аберації були відсутні навіть у тих жінок, у яких рівень аберантних клітин до лікування був підвищеним і складав 7,0% - 10,0%.

У хворих, які підлягали променевою лікуванню, виявлено підвищену кількість аберантних лімфоцитів порівняно з таким до лікування. Індивідуальні коливання числа аберантних метафаз у хворих, обстежених безпосередньо після променевої терапії, були у межах 5,71% - 24,00%, а через 12-20 місяців - 2,86% - 10,00%. Наявність дицентричних хромосом, розривів хромосом по центромірі та переважання аберацій хромосомного типу в лімфоцитах цих хворих свідчить про те, що виявлені зміни ініційовано променевим впливом / Н.П. Бочков, 1993; *E. J. Tawn, T.W.Hall, G.R.Schofield*, 1986/. Існування аберацій хромосом протягом довгого часу після променевого лікування є патологічним явищем, яке за певних умов може призвести до виникнення інших пухлин, про що свідчать дані літератури.

Для розширення наших знань про глибину змін, що відбуваються в геномі соматичних немалігнізованих клітин хворих на рак ендометрію, нами було проведене дослідження С-гетерохроматину, оскільки гетерохроматинові райони хромосом являють собою найважливіші структури, які контролюють внутриклітинний метаболізм і функціонування еухроматину.

Кількісний аналіз С-сегментів 1,9 та 16 хромосом у лімфоцитах периферичної крові обстежених пацієнток виявив поліморфізм С-блоків як у хворих на рак, так і у практично здорових жінок. Однак поліморфізм розмірів центромірного гетерохроматину у хворих на рак в більшості випадків відрізнявся від його змін у практично здорових жінок. Так, у хромосомі 1 у хворих на рак тіла матки відмічено тенденцію до зменшення центромірного гетерохроматину, а в хромосомі 9 - достовірне його зменшення порівняно з таким у здорових жінок. У хромосомі 16 у контролі величина С-сегмента не перевищувала трьох балів, тоді як у хворих жінок спостерігались всі п'ять типів гетерохроматинових сегментів з достовірною перевагою хромосом із збільшеним С-блоком. Згідно з даними літератури, зв'язок між варіабельністю структурного гетерохроматину і патологічними процесами у людини слід шукати не стільки в різниці частот окремих варіантів, скільки в характері їх комбінацій, в кількості і типах

варіантів /О.О.Прокоф'єва-Бельговська, 1986/.

З цієї точки зору важливим є вивчення частот екстремальних варіантів С-блоків та гетероморфізму гомологічних хромосом у хворих на рак тіла матки. Як свідчать отримані дані, у групі хворих жінок з більшою частотою, ніж у контролі, зустрічались С-сегменти за розміром в І бал у хромосомах І та 9 і однаково часто - в хромосомі І6. Великі С-блоки /4 бали/ у хромосомі І відмічено у контролі, а в хромосомі 9 їх кількість була однаковою у хворих і здорових жінок. У хромосомі І6 екстремальні варіанти великих розмірів /4-5 балів/ виявлено тільки у хворих на рак.

В літературі висловлюється кілька точок зору відносно можливої "патологічної" дії екстремальних С-варіантів хромосом. Існує припущення, що, окрім впливу на хромосомний баланс в клітині, екстремальні розміри гетерохроматинових районів /макро- та мікротваріанти/ можуть негативно впливати на функціонування генів, зокрема в ембріогенезі /Г.Р.Акопян, О.О.Созанський, Ю.И.Гаврилюк, 1992/, в результаті чого екстремальні варіанти при наявності відповідних генетичних змін можуть перетворюватись на "патологічні" фактори /Т.Г.Цветкова, 1981/.

Вказівок на зменшення С-сегмента в хромосомі 9 у лімфоцитах периферичної крові онкологічних хворих в доступній нам літературі не зустрічалось. Однак існують вказівки про одночасне зменшення С-блока в хромосомі І, 9 та І6 у хворих з гіпофункцією яєчників /І.Г.Дзеніс з співавт., 1984/ та про перичентричну інверсію в одному із гомологів хромосоми 9 в лімфоцитах хворої на рак ендометрію /F. Shabtai et al., 1988/. U. Kristoffersson et al. /1989/ відмічають збільшення С-сегмента у хромосомі І6 при мієлоїдному лейкозі. Автори вважають, що збільшення області конститутивного гетерохроматину може сприяти гомо- і гемізиготизації генів і, таким чином, створювати прогресії пухлин.

Зважаючи на те, що І2 пробандів, хромосоми яких обстежені за С-методом, не мали родичів з онкопатологією, а в сім'ях ІІ зустрічались родичі з різними злоякісними пухлинами, нами було проведено зіставлення розмірів С-сегмента у І, 9 та І6 хромосом в залежності від обтяженості сімейного анамнезу щодо раку.

Як видно із даних табл. 3, у хворих з онкопатологією в родоводах відмічено збільшення кількості маленьких С-сегментів /І бал/ в хромосомах І і 9 та збільшення кількості великих С-сегментів /5 балів/ у хромосомі І6.

Таблиця 3

Розподіл частот /%/ С-варіантів I,9 та I6 хромосом у хворих на рак ендометрію, які мають здорових родичів /I/ і родичів з пухлинною патологією /II/

Групи обстежених	Розмір С-сегментів у балах				
	I	2	3	4	5
Хромосома I					
I	14,34±2,05*	55,25±2,89	29,72±2,70	0,70±0,70	
II	28,7±2,5I*	60,79±2,7I	11,11±1,7I		
Хромосома 9					
I	19,93±2,05*	64,69±2,8	14,34±2,05	1,05±0,60	
II	32,70±2,09*	51,24±2,77	14,20±1,93	2,47±0,86	
Хромосома I6					
I	25,87±2,58	54,55±2,56	16,78±2,18	2,45±0,91	0,35±0,34*
II	30,25±2,54	18,77±2,77	12,65±1,84	4,94±1,20	3,40±0,51*

Примітка: * Різниця між показниками достовірна

Виходячи з даних літератури, вплив структурного гетерохроматину на функціонування еухроматину до кінця не з'ясований. Якщо припустити, що хромосомні аберації в лімфоцитах периферичної крові хворих на рак є результатом мутаційних процесів, які спостерігаються в організмі хворих, то конститутивний гетерохроматин через механізм транскрипції та зворотної транскрипції ДНК являє собою один із регулюючих факторів цих процесів /О.О.Прокоф'єва-Бельговська, 1986; О.П.Акиф'єв, Г.О.Худолій, 1993/.

Таким чином, цитогенетичне дослідження лімфоцитів периферичної крові хворих на гіперплазію та рак ендометрію виявило нестабільність хромосомного апарату у хворих на передрак і рак тіла матки. Показано, що підвищений рівень структурних аберацій хромосом і поліморфізм С-сегментів I,9 та I6 хромосом у хворих на рак ендометрію залежить від обтяженості сімейного анамнезу на онкопатологію. Але для розкриття механізмів зміц, що мають місце в геномі соматичних немалігнізованих клітин у хворих із злоякісними новоутвореннями різного генезу, необхідні подальші теоретичні розробки. Суттєвою проблемою є також впровадження результатів цитогенетичного та клініко-генеалогічного аналізу в практику лікувальних закладів для виявлення контингенту осіб, схильних до онкопа-

тології. Останнє є особливо важливим, оскільки профілактика такого складного процесу, яким є малігнізація, реальна тільки на початкових етапах його виникнення.

В И С Н О В К И

1. В лімфоцитах периферичної крові хворих на рак та атипову гіперплазію ендометрію спостерігається достовірно більша кількість аберацій хромосом, ніж у хворих на залозеву гіперплазію та у практично здорових жінок.
2. Кількість структурних аберацій хромосом лімфоцитів периферичної крові у хворих на рак ендометрію не залежать від патогенетичного варіанта пухлинного процесу, його стадії і ступеня диференціювання пухлини.
3. Частота структурних аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові достовірно збільшена у хворих на рак ендометрію із агрегацією пухлинної патології в сім'ях.
4. Променеве лікування хворих на рак ендометрію сприяє підвищенню кількості аберацій хромосомного типу, зокрема парних ацентричних фрагментів та дицентричних хромосом, які зберігаються протягом довгого часу.
5. В лімфоцитах периферичної крові хворого на рак ендометрію змінюється поліморфізм С-сегментів 1,9 та 16 хромосом порівняно з його показниками у здорових жінок.
6. У хворих на рак ендометрію з обтяженим сімейним онкоанамнезом відмічено достовірне зменшення розмірів С-блоків у хромосомах 1 і 9 та їх збільшення в хромосомі 16.
7. Сумарна частота екстремальних варіантів С-сегментів у хромосомах 1,9 та 16 достовірно вища в групі хворих на рак ендометрію з обтяженим онкоанамнезом.
8. Отримані результати цитогенетичного аналізу свідчать про нестабільність структури і функції хромосом у лімфоцитах периферичної крові хворих на рак ендометрію.

Перелік робіт опублікованих за темою дисертації

1. Несіна І.П., Нонко В.Д. Состояние хромосом лимфоцитов периферической крови больных раком тела матки при комплексной терапии // Тез. докл. II Респ. науч. конф. по онкогенетике. - Киев, 1983. - С. 120-121.

2. Возможности повышения эффективности лучевого лечения больных раком тела матки /Полищук Л.З., Куница М.Т., Несина И.П. и др. //Тез.докл.УП съезда рентгенологов и радиологов УССР. - Киев, 1983. - С.319-320.
3. Состояние хромосомного набора клеток при железистой гиперплазии и раке эндометрия. Полищук Л.З., Бучинская Л.Г., Гриценко А.Ф., Несина И.П., Винниченко В.Н. // Тез.докл. I Всесоюз.съезда мед. генетиков. - М.,1983. - С.262-263.
4. Полищук Л.З., Куница М.Т., Несина И.П. Дифференциальный подход к лучевому лечению рака тела матки // Тез.докл.Всесоюз.конф. "Стандартизация методов лучевой терапии". -Ленинград,1983. - С.122-123.
5. Несина И.П., Нонко В.Д., Воробьева Л.И. Сопоставление уровня и характера аберраций хромосом в лимфоцитах периферической крови при раке тела матки // Тез.докл. УП съезда онкологов УССР. - Симферополь,1985. - С.789-791.
6. Цитогенетические изменения в лимфоцитах периферической крови у больных с гиперпластическими состояниями и раком эндометрия /Ганина К.П., Несина И.П., Полищук Л.З., Нонко В.Д. // Клиническая онкология: Респ.межвед. сб. - Киев: Здоров'я, 1986. - 6. - С.78-82.
7. Значение использования цитогенетических методов при комплексном обследовании больных предраком и раком эндометрия /Полищук Л.З., Гриценко А.Ф., Несина И.П. и др. // Тез.докл. II Респ.съезда онкологов, рентгенологов и радиологов Казахстана. - Алма-Ата, 1988. - С. 210-211.
8. Генетические аспекты профилактики предрака и рака эндометрия /Ганина К.П., Полищук Л.З., Несина И.П. и др. //Тез.докл. Всесоюз.симпоз. "Системный патогенетический подход к профилактике, ранней диагностике и лечению гормонозависимых опухолей у женщин. - Ленинград, 1988. - С.19-20.
9. The cytogenetic study in the patients with endometrial hiperplasia and cancer / Ganina K.P., Polishchuk L.Z., Grixenko A.F., Buchinskaya L.G., Nesina I.P. // 16-th European Congress of cytology. - Budapest, 1988. - P. 111.
10. Исследование кариотипа в иммунокомпетентных клетках периферической крови больных раком эндометрия /Полищук Л.З., Несина И.П., Гриценко А.Ф. и др. //Тез.докл. УШ Всесоюз. съезда патологоанатомов. - Тбилиси, 1989. - С.222-223.

11. Цитогенетические изменения в лимфоцитах периферической крови больных раком эндометрия / Ганина К.П., Полищук Л.З., Бучинская Л.Г., Несина И.П., Воробьева Л.И. // Информ. письмо. - Киев, 1989. - 7с.
12. Использование методов генетического анализа при обследовании больных раком эндометрия / Полищук Л.З., Гриценко А.Ф., Несина И.П., Воробьева Л.И., Ганина К.П. // Акушерство и гинекология. - 1990. - №2. - С.49-51.
13. Рецидив рака эндометрия после сочетанной лучевой терапии / Ганина К.П., Полищук Л.З., Несина И.П., Воробьева Л.И., Скорода Л.В. // Врачебное дело. - 1990. - №4. - С.84-86.
14. Полищук Л.З., Колесник Я.Ф., Несина И.П. Изучение родословных у больных раком эндометрия // Тез. докл. 5-го Респ. симпоз. по гинеколог. онкол. - Тбилиси, 1990. - С.64.
15. Полищук Л.З., Несина И.П., Колесник Я.Ф. Теоретические основы и практические предпосылки исследования взаимосвязи между опухолью и организмом у больных раком эндометрия // Тез. докл. съезда онкологов УССР. - Донецк, 1990. - С.449-451.
16. Цитологическая реактивность онкологического больного / Ганина К.П. ..., Несина И.П., Полищук Л.З. // Тез. докл. Респ. науч. конф. "Механизмы канцеро- и лейкозогенеза" - Киев, 1990. - С.57-58.
17. Полищук Л.З., Несина И.П. Цитогенетические изменения в лимфоцитах периферической крови онкологических больных // Цитология и генетика. - 1990. - 24, № 2. - С.46-56.
18. Использование автоматизированной информационной системы в семейно-популяционных исследованиях рака эндометрия / Бойко Ю.В., Ганина К.П., Колесник Я.Ф., Полищук Л.З., Несина И.П. // Тез. докл. Всесоюз. симпоз. "Автоматизированные информационные системы в онкологии". - Ленинград, 1991. - С.29-30.
19. Цитогенетические изменения в лимфоцитах периферической крови больных раком эндометрия после лечения / Ганина К.П., Полищук Л.З., Несина И.П., Воробьева Л.И. // Тез. докл. Пленума правления Укр. респ. о-ва патологоанатомов. - Запорожье, 1991. - С.14-15.
20. Несина И.П., Воробьева Л.И. Цитогенетическая характеристика лимфоцитов периферической крови больных раком эндометрия // Тез. докл. VI съезда о-ва генетиков и селекционеров. - Минск, 1992. - С.127.

21. Несина И. П., Полищук Л. З. Хромосомные aberrации и полуклоличественный анализ полиморфизма хромосом 1,9 и 16 в лимфоцитах периферической крови больных раком эндометрия // Тез. докл. VI съезда Укр. о-ва генетиков и селекционероим. Н. И. Вавилова. — Полтава, 1992. — С. 85.

22. Агрегация злокачественных опухолей репродуктивной системы в семьях онкологических больных / Полищук Л. З., Исакова Л. М., Колесник Я. Ф., Несина И. П., Ганина К. П. // Тез. докл. симпози. «Актуальные проблемы профилактики лечения рака молочной железы». — Санкт-Петербург, 1993. — С. 92—93.

Підв. до друку 09.09.93. Формат 60×84/16. Папір друк. № 2. Офс. друк. Ум. друк. арк. 0,93. Ум. фарбо-відб. 1,05. Обл.-вид. арк. 1,0. Тираж 100 прим. Зам. 1284.

Редакційно-видавничий відділ з поліграфічною дільницею
Інституту кібернетики імені В. М. Глушкова АН України
252207 Київ 207, проспект Академіка Глушкова, 40

464188

AB 28.362
AB 28.362