

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Біологічний факультет

Кафедра генетики і цитології

До захисту допущено

Кафедрою генетики і цитології протокол № _____ від _____

завідувач кафедри



(підпис)

Наталя ВОЛКОВА

(ім'я, прізвище)

«05» грудня 2025 р.

Кваліфікаційна робота
здобувача другого (магістерського) рівня вищої освіти

**ОЦІНКА ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ У ПІДЛІТКІВ З
ПСИХІЧНИМИ РОЗЛАДАМИ**

(назва роботи)

Спеціальність (спеціалізація) 091 Біологія та біохімія

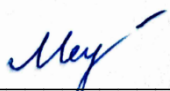
(код та найменування спеціальності; спеціалізації спеціальності - за наявності)

Освітня програма

Біологія

(назва освітньої програми)

Виконавець



(підпис)

Юлія МИРОШНИЧЕНКО

(ім'я, прізвище)

Науковий керівник



(підпис)

Наталія БАГАЦЬКА

(ім'я, прізвище)

Харків – 2025

РЕФЕРАТ

Роботу викладено на 50 с. друкованого тексту, ілюстровано 2 таблицями, 12 рисунками.

Об'єкт дослідження – лімфоцити периферичної крові хворих з психічними розладами та здорових однолітків.

Предмет дослідження – частота хромосомних порушень в лімфоцитах крові хворих та здорових однолітків.

Мета дослідження: проаналізувати стан хромосомного апарату у підлітків з психічними розладами до та після впливу мутагену-провокатора Мітоміцину С.

Методи – цитогенетичний, статистичні.

У роботі було досліджено стан хромосомного апарату до та після впливу мутагену-провокатора на лімфоцити крові підлітків із психічними захворюваннями (тривожно-фобічними та депресивними розладами). Встановлено, що частота хромосомних аберацій в лімфоцитах крові до впливу мутагену-провокатора становила 6,5% у хворих з тривожно-фобічними розладами та 7,8% у хворих із депресією, а після впливу мутагену-провокатора рівень хромосомних аберацій в лімфоцитах крові хворих із тривожно-фобічними розладами суттєво збільшився і становив 12,3%, а у підлітків з депресивними розладами – 13,9%, що майже вдвічі перевищувало загальний рівень хромосомних аберацій до впливу мітоміцину С. У здорових підлітків частота аберацій хромосом становила 1,9%, а після впливу мутагену на лімфоцити крові зросла до 12,4 % (6,5 разів). Отже, як у хворих із психічними розладами, так і у здорових однолітків визначено суттєве підвищення частоти хромосомних порушень внаслідок впливу мітоміцину С на лімфоцити крові.

Ключові слова: тривожно-фобічні розлади, депресивні розлади, підлітки, хромосоми, мутагенез, аберації.

Використано 52 джерела літератури.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	2
ЗМІСТ.....	3
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ ТА СПЕЦІАЛЬНИХ ТЕРМІНІВ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. ПСИХІЧНІ РОЗЛАДИ У ПІДЛІТКІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	9
1.1. Сучасні дослідження про частоту та причини виникнення психічних розладів:	9
1.1.1. Характеристика чинників ризику у формуванні психічних розладів.....	12
1.1.2. Оцінка сімейних особливостей при різних психічних розладах.....	16
1.1.3. Мутагенез та його вплив на хромосомний апарат людини.....	17
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	21
2.1. Дизайн роботи.....	21
2.2. Метод культивування лімфоцитів периферичної крові.....	22
2.3. Метод постановки культури лімфоцитів крові із застосуванням мутагену-провокатора мітоміцину С.....	22
2.4. Аналіз препаратів хромосом.....	23
2.5. Об'єктивність аналізу препаратів хромосом.....	24
2.6. Стандарти аналізу препаратів хромосом.....	24
2.7. Вимоги Комітету з біоетики та деонтології до проведення цитогенетичних досліджень	24
2.8. Статистичний аналіз даних.....	25
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	26
3.1. Статистичні гіпотези.....	26

3.2. Аналіз цитогенетичних показників в лімфоцитах крові підлітків з тривожно-фобічними розладами порівняно з їх частотою у здорових підлітків.....	27
3.3. Визначення каріотипу та можливих порушень хромосом в лімфоцитах крові підлітків з депресією та здорових однолітків.....	29
3.4. Характеристика цитогенетичних показників у лімфоцитах крові здорових підлітків.....	32
3.5. Порівняння частоти хромосомних порушень у лімфоцитах крові підлітків з тривожно-фобічними і депресивними розладами.....	33
3.6. Оцінка впливу мутагену-провокатора на лімфоцити периферичної крові хворих з психічними розладами та здорових підлітків.....	36
ВИСНОВКИ.....	42
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	43
АНОТАЦІЯ.....	49
SUMMARY.....	50

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ ТА СПЕЦІАЛЬНИХ ТЕРМІНІВ

AX (або ХА)	–	аберації хромосом (або хромосомні аберації)
ДР	–	депресивні розлади
ВООЗ	–	Всесвітня організація охорони здоров'я
ЛПК	–	лімфоцити периферичної крові
МКХ-10	–	Міжнародна класифікація хвороб Х перегляду
ТФР	–	тривожно-фобічні розлади
<i>DUP</i>	–	дуплікація
<i>DRD3, DRD4</i>	–	гени рецепторів дофаміну
<i>TH</i>	–	ген тирозингідроксилази
<i>HTR1A, HTR2A, HTR1B, HTR2C</i>	–	гени рецепторів серотоніну
<i>MAO-A</i>	–	гени ферментів моноаміноксидази-А
<i>SERT</i>	–	ген, кодуючий транспортер серотоніну
<i>SLC6A2</i>	–	гени транспортерів норадреналіну
<i>NTRK3</i>	–	зверхекспресований ген нейротрофіну

ВСТУП

Актуальність. На сьогодні в умовах війни в Україні надзвичайно важливою проблемою є психічне здоров'я всього населення і, насамперед дитячого і підліткового. Депресивні та тривожні розлади є найчастішими порушеннями серед населення різних країн Європи, розповсюдженість яких коливається у межах від 3,8% до 6,3%, причому 15-20% людей, які страждають на важкі розлади психіки, нерідко закінчують життя суїцидом. Розумова відсталість або психічні порушення зустрічаються у 5% дітей у країнах, що розвиваються, та у 0,5% дітей із розвинутих країн. Слід наголосити, що в Європі кожен з 4-х підлітків має психічний розлад або відхилення в психічному здоров'ї [10, 15].

Україна посідає 2 місце серед 10 найбільш депресивних країн світу (ВООЗ "Depression and Other Common Mental Disorders") [49]. Згідно даних ВООЗ, кожна п'ята людина, що зазнала впливу війни, перебуває під ризиком розвитку психічних захворювань, в Україні – близько 8,5 млн. осіб. За прогнозами МОЗ України, психологічну допомогу внаслідок війни необхідно здійснювати 15 млн. українцям (близько 3-4 млн – медикаментозного лікування). За даними, отриманими співробітниками ДУ «ІОЗДП НАМН», більше 57% дітей на тлі війни в Україні мають симптоми емоційних чи поведінкових реакцій, реактивні психогенні розлади, іноді до ступеня психозу та ознак порушення соціального функціонування [11, 17].

Депресивні та тривожні розлади виникають внаслідок взаємодії різних факторів – біологічних, психологічних, соціальних, демографічних. Підліткові тривожні та депресивні розлади відрізняються суттєвим деструктивним потенціалом, тому що вони є загрозою життя людини [29, 36].

Стресові фактори навколишнього середовища і спадкові чинники, які діють через імунологічні та ендокринні реакції, ініціюють структурні і функціональні зміни в багатьох областях мозку, що призводить до дисфункційного нейрогенезу і нейротрансмісії, які надалі виявляються як

сукупності симптомів, що являють собою депресію [11]. На сьогодні тривожно-фобічні розлади (ТФР) є однією з найбільш частих патологій серед усіх психічних розладів і реєструються в 3,7–5,1 % випадків [12].

Ідентифіковано декілька генів, асоційованих із нервовими розладами. Зокрема, ген *GTF2I*, розташований на довгому плечі 7-ої хромосоми в положенні 11.23, у разі делеції викликає синдром Вільямса, який характеризується розумовою відсталістю та специфічними рисами обличчя, а у разі дуплікації - синдром дуплікації 7q11.23. Даний синдром є аутосомно-домінантним захворюванням, що включає тривожні розлади (такі як соціальні фобії і виборчий мутизм, підвищену агресію, аутистичну поведінку тощо).

Також виявлено дуплікацію регіону q24-26 на 15-ій хромосомі (15q24-26), названу *DUP25*, у якій міститься велика кількість дупліконів (повторювальних послідовностей), що може призводити до виникнення тривожно-фобічних розладів [19].

Серед генів схильності до депресії, які досліджували вчені з Китаю, Англії і США, визначено два локуси *SIRT1* і *LHPP*, які локалізовані на 10 хромосомі: ген *SIRT1*, що відповідає за активність мітохондрій (при депресії підвищена кількість мітохондріальної ДНК) та ген *LHPP*, який є регулятором експресії гена серотонінового рецептору HTR1A [52]. В окремих роботах, які проводилися раніше, визначено сімейне накопичення психічних розладів, а також високий рівень хромосомних порушень в лімфоцитах крові дітей та підлітків із депресією [14]. Саме ці питання є важливими у з'ясуванні причин виникнення психічних розладів та їх наслідків у різних вікових групах, особливо їх значення у порушеннях психічного здоров'я молодого покоління.

Мета роботи. Проаналізувати стан хромосомного апарату у підлітків з психічними розладами до та після впливу мутагену-провокатора Мітоміцину С.

Завдання:

1. Оцінити стан хромосомного апарату в лімфоцитах крові підлітків з тривожно-фобічними та депресивними розладами.
2. Надати характеристику каріотипу та цитогенетичних особливостей в лімфоцитах крові здорових підлітків.
3. Провести порівняльний аналіз рівня хромосомних ушкоджень в лімфоцитах крові хворих із психічними розладами та здорових однолітків.
4. Дослідити рівень хромосомних порушень у лімфоцитах крові у хворих з психічними розладами та здорових підлітків після впливу мутагену на лімфоцити крові хворих та здорових підлітків.

Наукова новизна. Вперше у магістерській роботі проаналізовано дані про спонтанну та приховану хромосомну нестабільність в лімфоцитах периферичної крові хворих з психічними розладами та проведено їх порівняння. Враховуючи генетичні особливості хворого, можливість визначення спонтанної та прихованої хромосомної нестабільності може стати важливим кроком у розвитку персоналізованої медицини при психічних розладах.

Практичне значення. Практичне значення роботи полягає у ранньому виявленні хворих підлітків з порушеннями хромосомного апарату задля проведення їм своєчасної терапії, яка дозволяє стабілізувати пошкодження ДНК, що матиме велике значення для їхньої репродуктивної функції.

Особистий внесок магістра. Освоєння методики культивування лімфоцитів периферичної крові, вивчення та аналіз літературних джерел, статистична обробка результатів дослідження, написання кваліфікаційної роботи магістра.

РОЗДІЛ 1.

ПСИХІЧНІ РОЗЛАДИ У ПІДЛІТКІВ

(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Сучасні дослідження про частоту та причини виникнення психічних розладів

Відомо, що 450 млн. людей в усьому світі страждають на різні розлади психіки; до того ж в Європі кожен з 4-х підлітків має психічний розлад або відхилення в психічному здоров'ї. За даними ВООЗ найчастішими розладами у Європейському регіоні є депресивні і тривожні розлади, розповсюдженість яких суттєво зростає. В Європейському регіоні показник депресивності в середньому коливається у межах від 3,8% до 6,3%, при цьому 15-20%людей, які страждають на депресію, нерідко закінчують життя суїцидом [50].

Депресивні розлади представляють собою групу порушень, які характеризуються переважаючим симптомом пригніченого настрою. Ці розлади можуть виникати внаслідок різноманітних причин, таких як порушення настрою (афективні розлади), соматичні захворювання, проблеми з адаптацією до складних ситуацій, отруєння та побічні ефекти лікарських засобів, а також в рамках інших психічних розладів, таких як шизоафективні розлади, постпсихотична депресія, депресивні і тривожні біполярні розлади, неврастенії та абстинентні синдроми [8, 37]. На сьогодні ДР є однією з актуальних проблем у сфері сучасної психологічної теорії та практики. Психологи, психотерапевти та медичні працівники вказують на раптовий ріст поширеності депресії серед населення, зокрема у розвинених країнах, на межі XX-XXI століть [4, 7, 23]. Згідно прогнозу Всесвітньої організації охорони здоров'я, до 2020 року депресивні розлади стануть лідером серед найбільш поширених захворювань людства.

Депресія відома ще з давніх часів, відображена у ранніх записах людства. "Гіппократові записки" містять опис душевних мук, які названі меланхолією та розглядаються як хвороба, що впливає на самопочуття та

поведінку людини [39]. Депресія згадується і в Біблії: Йова описує невмирущі душевні муки, а Ісус Христос в Гетсиманському саду виражає сум та тугу.

Своєрідною підтримкою для терміну "смертельна хвороба" для депресії є філософ і психолог С. К'єркегор, який використовує його у ХІХ столітті. Ці визначення відображають сучасні уявлення про депресію як хвороби сучасного суспільства, що розповсюджується як епідемія, і може призводити до самогубств, що за статистичними даними неперервно зростає, і розглядається як розлад, що паралізує життєву продуктивність, спонукаючи людину до глибокого страждання.

Період активних спроб класифікації депресії та більш глибокого її вивчення розпочався у 60-70 роках ХХ століття. Результати наукових досліджень того періоду, спрямованих на вирішення проблем депресивних розладів, були представлені у працях таких авторів, як А. Бек, О.П. Вєтроградова, П. Кільгольц, Г.Ф. Колотілін, Дж. Клерман та інших [22]. Наукові спроби класифікації депресивних розладів були настільки численними, що це часто призводило до термінологічної плутанини та ускладнення діагностики, оскільки старі класифікації існували паралельно з новими [9, 41]. Зазвичай депресії класифікувались за двома принципами: феноменологічним та нозологічним. За висловами Б.Д. Карвасарського [9], синдром невротичної депресії виникає в результаті психогенних факторів і виявляється через психотравмуючу ситуацію. Основний його елемент - це знижений настрій, який не досягає ступеня туги і супроводжується вираженою емоційною лабільністю, астеною, тривожністю, порушенням сну та апетиту, а також безсонням. Песимізм хворого обмежується рамками психотравмуючої ситуації і не має загального характеру. Симптоми невротичної депресії є нестійкими: відсутність моторної та психічної загальмованості, слабо виражені добові коливання настрою, а також помірно виражені соматичні розлади, такі як зниження апетиту та погіршення сну. Депресивний настрій має місце лише при спогадах та

обговоренні психотравмуючих проблем. Людина розуміє свій стан, його зв'язок з фактором, що викликав депресію, та намагається протистояти їй, усуваючи його причину.

Термін "депресія виснаження" визначається такими вченими як Г.К. Розе, К.П. Кіскер, Г. Фрайбергер та ін. [9] і розглядався як синдром із психічними, вегетативними, соціальними та соматичними ознаками депресії. Виснаження нервової системи викликається тривалими психічними навантаженнями, важкими повторюваними психічними травмами та афективними розладами, що приводять до емоційного виснаження та ослаблення афективного потенціалу людини [32]. Ця форма депресії є наслідком не стільки фізичного перевантаження, скільки емоційного виснаження.

Періодичні монополярні депресивні стани, циклічні біполярні маніакально-депресивні психози, інволюційні та шизофренічні депресії входять до групи ендогенних депресивних захворювань [10, 21, 22]. Ендогенні депресії є частиною психотичних депресивних розладів. Симптоматика ендогенного психозу у багатьох аспектах схожа на симптоматику невротичних депресивних станів, такі як ідеї самозвинувачення, низька самооцінка та відчуття безпомічності. Однак невротична депресія має сприятливіший прогноз і передбачає збереження основних особистісних якостей [20].

Крім ендогенних депресивних синдромів, до психотичних депресій відносять соматогенні депресивні психози. Вони можуть виникати внаслідок структурних змін у головному мозку, таких як атеросклероз, набряки, прогресуючий параліч, черепно-мозкові травми та як супутній синдром екстрацеребрального захворювання [23]. Психотичні депресії відносяться до важких форм прояву депресивних розладів, характеризуються складною симптоматикою, яка включає грубу дезорганізацію особистості з втратою контакту з реальністю, раптову появу психотичних станів, бажання смерті, виражені ідеї самозвинувачення та можливість рецидиву [22]. Лікування

зазвичай включає в себе застосування медикаментозних препаратів, психотерапії, а також може включати електросудову терапію та іноді швидкі транскраніальні магнітні стимуляції (rTMS).

1.1.1. Характеристика чинників ризику у формуванні психічних розладів

Згідно сучасних уявлень, біологічною причиною формування психічних розладів, зокрема таких як ТФР, є гіперстимуляція бета-адренергічних рецепторів і блокада рецепторів, що зв'язуються бензодіазепінами та регулюючих метаболізм гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК), збільшення рівня катехоламінів, підвищення викиду лактату та серотоніну, а також зниження рівня кальцію у сироватці.

При ТФР відзначається підвищення активності таких структур: септальних областей, коловодопровідної сірої речовини, мигдалеподібного ядра й області орбіто-фронтальної кори [25]. При тривожних розладах може відбуватися патологічне збудження в інсулі та мигдалевидному тілі, що відображає дизрегуляційний вплив із вентромедіальних відділів передньої кори [48]. Розвиток симптомів специфічних і соціальних фобій може бути пов'язаний із гіперактивністю даних областей мозку. В основі соціальних фобій лежить перезбудження та подальша дисфункція структур, що регулюють діяльність вегетативної нервової системи, що в свою чергу пов'язують зі зміною продукції кортикотропін-рилізинг-фактору – нейропептиду, який приймає участь у формуванні афекту страху. У хворих із фобічними розладами виявлено ознаки дисфункції серотонінергічної, дофамінергічної, ГАМК-ергічної та опіоїдної систем, а також порушення вироблення окситоцину. Також при даних розладах знижена переносимість фізичних навантажень, при цьому відбувається збільшення викиду молочної кислоти.

Встановлено, що схильність до розвитку тривожних розладів носить сімейний характер і визначається взаємодією великої кількості генів [31].

Через велике розмаїття форм тривожних розладів і складний характер успадкування досить складно ідентифікувати та вивчити ці гени. Вчені Х. Estivill та А. Bulbena досліджували клінічну асоціацію між тривожними розладами та слабкістю суглобів у членів 7-ми сілських сімей, що мешкали недалеко від Барселони. У 67 із 93 осіб (72 %) було виявлено дуплікацію регіону q24-26 на 15-ій хромосомі (15q24-26), названу *DUP25*, у якій міститься велика кількість дупліконів (повторювальних послідовностей). У 90 % людей, хворих на тривожні розлади, та у всіх, хто страждає на панічні атаки, спостерігалася саме ця аномалія (*DUP25*). Механізм, за допомогою якого дуплікація 15q24-26 призводить до тривожно-фобічного розладу, ймовірно, пов'язаний із дозуючим ефектом, із надлишковою експресією одного або декількох генів *DUP25*. Зокрема, було виявлено, що у людей із даними порушеннями був зверхекспресований ген нейротрофін 3 (*NTRK3*), що міститься в *DUP25*. *NTRK3* грає важливу роль у поведінковому збудженні у відповідь на подразники, а його надмірна експресія може зменшити поріг емоційного збудження та привести до панічних атак. Що, на думку Dr. Estivill, відкриває нову еру для розуміння психічних розладів, а також «ідентифікація» *DUP25* повинна привести до біологічного, генетичного та клінічного визначення основи тривожних розладів [19].

В експериментальних дослідженнях, проведених у Массачусетському університеті на мишах, встановили, що ген *RGS2*, який відіграє роль у модуляції активності рецепторів-мішеней для більшості нейролептиків і антидепресантів, найімовірніше асоційований із тривожним темпераментом. Автори відзначають, що миші-нокауті за даним геном відрізнялися збільшеною тривогою та схильністю до страхів [46]. Ген *RGS2* у людини знаходиться на короткому плечі першої хромосоми (1q31.2). Для детального дослідження *RGS2* поставили кілька експериментів. Були відібрані зразки крові 119 пробандів різного віку: 4-ох, 6-ти та 21-го років, які брали участь у проведеному раніше дослідженні оцінки їх поведінки у нестандартних ситуаціях, рівню замкнутості та типу темпераменту - ознак, пов'язаних із

підвищеною тривожністю. При дослідженні *RGS2* було виявлено 9 варіацій гена, які були асоційовані з тривожністю, вразливістю та замкненістю.

Значна кількість генетичних досліджень при ДР скерована на аналіз поліморфізмів генів, що відповідають за нейротрансмісію серотоніну, норадреналіну та дофаміну. Ген *SLC6A4* (*SERT*), що кодує транспортер серотоніну, відповідає за зворотне захоплення серотоніну (5-HTT) із синаптичної щілини і відіграє роль у підтримці рівня серотоніну у пресинаптичній області. Це обумовлено тим, що інгібітори зворотного захоплення серотоніну наразі широко використовуються в психіатрії для лікування депресії, тривоги та інших станів [43]. Найбільш вивчений поліморфізм цього гена *5-HTTLPR* пов'язаний з наявністю (довгий алель L) або відсутністю (короткий алель S) фрагменту розміром 44 п.н., який пов'язаний з індивідуальними особливостями афективних проявів, тобто емоційністю і чутливістю до стресових подій: носії генотипу SS схильні до розвитку меланхолійних і суїцидальних рис, тривожних і депресивних станів, в той час як варіант LL навпаки, сприяє більшій витривалості, стійкості до стресу, а генотип LS пов'язаний з проміжним ризиком для носія [27].

Згідно моноамінової гіпотези ДР досліджено також гени-кандидати: гени рецепторів дофаміну (*DRD3*, *DRD4*) і серотоніну (*HTR1A*, *HTR2A*, *HTR1B*, *HTR2C*); гени транспортерів норадреналіну (*SLC6A2*) і дофаміну (*SLC6A3*); гени ферментів моноаміноксидази-A (*MAO-A*), тирозингідроксилази (*TH*), триптофангідроксилази-1 (*TPH1*), катехол-о-метилтрансферази (*COMT*) та ін. Для кожного з цих генів були виявлені поліморфні варіанти, які були пов'язані з точковими мутаціями або поліморфізмами тандемних повторів [51].

Встановлено асоціації для генів *CRHR1* і *CRHR2*, які кодують CRH-рецептори. *CRHR1* відіграє ключову роль у регулюванні осі НРА у відповідь на стрес і опосередковує вплив CRF на вивільнення АКТГ гіпофізом, що стимулює вироблення кортизолу. Відповідно до нейрон-трофічної гіпотези, порушення нормального нейрогенезу під час онтогенетичного розвитку

мозку впливає на виникнення ДР. Вважається, що це зумовлене порушенням метаболізму нейрон-трофічних факторів, насамперед мозкового нейрон-трофічного фактору (*BDNF*) у нервовій тканині, який відіграє важливу роль в пластичності та відновленні клітин мозку і відповідає за ріст числа аксонів і збільшення числа синапсів [42].

Окремі дослідження показали зв'язок між початком ДР і поліморфними варіантами генів, що кодують білки циркадної системи, включаючи *BMAL1* (Brain and Muscle ARNT-Like 1), *CLOCK* (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput), *NPAS2* (Neuronal PAS domain protein 2), *PER3* (Period circadian protein homolog 3), *CRY1* (Cryptochrome circadian clock 1) і *TIMELESS* [30]. В роботі, яка присвячена ролі генетичних чинників на схильність до суїциду, показано зв'язок з геном регуляції циркадних ритмів — *ARNTL2* (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 2), який, можливо, також залучений до патогенезу ДР [33]. Особливу увагу привертає вивчення стану хромосомного апарату у хворих із психічними розладами. Підвищення частоти спонтанних та індукованих мутацій часто спостерігається у пацієнтів з різними психічними розладами. У дітей з депресією в порівнянні зі здоровими однолітками аналогічного віку достовірно частіше реєструються порушення хроматидного, хромосомного і геномного типів — 13,9% проти 1,6%. Рівень аберацій хроматидного типу у дітей з депресією перевищує таких у здорових дітей у 7,7 разів; хромосомного типу - в 4,4 рази, а геномного - в 10 разів, що вказує на виражену нестабільність генома цих хворих [11]. Більша спонтанна частота ХА спостерігається і в ЛПК дітей, хворих на ТФР, і складала 4,95 %, що перевищує частоту ХА у здорових осіб в 3,1 рази [5].

Слід зазначити, що у хворих на психічні розлади, які зазнали терапії хімічними препаратами, також значно підвищений рівень хромосомних аберацій, але до кінця не відомо, чи пов'язано це з лікуванням або перебігом тривожного або депресивного розладу [2, 5, 28].

Таким чином, дані літератури свідчать про те, що проблема тривожно-фобічних та депресивних розладів є надзвичайно актуальною і потребує

всебічного дослідження, на сьогодні ще є не вирішеною остаточно. Особливої актуальності набуває виявлення сімейного накопичення психічних та інших мультифакторних захворювань в родинах хворих дітей. Іншим важливим напрямом є дослідження, скеровані на визначення певних цитогенетичних особливостей при психічних розладах.

1.1.2. Оцінка сімейних особливостей при різних психічних розладах

Досліджуючи сімейні особливості при психічних хворобах, слід відзначити, що у пробандів, хворих на ТФР, у родині набагато частіше зустрічаються родичі, які страждають на психічні захворювання [47]. Встановлено, що у нащадків пацієнтів, які страждають соціальним тривожним розладом, також підвищувався ризик розвитку тривожних розладів [34], ця закономірність спостерігається і при генералізованому тривожному розладі [24, 35, 47].

На сьогодні також проводяться дослідження, які скеровані на виявлення причин виникнення депресії на підставі сімейного аналізу [50]. Встановлено, що у родичів I ступеня спорідненості, а також у нащадків батьків, що страждають на тяжку депресію, ризик виникнення афективного розладу досягає 15,0 %. При цьому спадкова обтяженість до депресивно-параноїдальних станів дорівнює 41,66 %, до психозів – 18,33 %, що суттєво перевищує спадкову обтяженість у хворих з істеричними психозами (9,09 %) і підтверджує роль спадковості в розвитку депресивних станів у дитячому і підлітковому віці. Дослідження частоти мультифакторних хвороб серед різних категорій родичів в дослідженнях, які проводилися протягом багатьох років, свідчило про сімейне накопичення мультифакторних хвороб, в тому числі й психічних розладів. За даними [3], спадкова обтяженість до психічних розладів реєструвалась в 66%, до депресії – в 56% і частіше виявлялася по материнській, ніж по батьківській лінії. Аналізуючи частоту ДР у родичів 3-х ступенів спорідненості, визначили, що частіше ці розлади реєструвалися у матерів порівняно з батьками, у сестер – з братами та у

бабусь – з дідусями, що вказує на більшу схильність осіб жіночої статі до депресивних розладів.

Встановлено, що депресивний розлад є мультифакторним захворюванням, у формуванні якого приймають участь чинники спадковості та середовища, при цьому генетична складова дорівнює 65,5%, середовищна - 34,5% [14]. Отже, встановлено сімейне накопичення різних мультифакторних хвороб у родинах хворих з психічними розладами.

1.1.3 Мутагенез та його вплив на хромосомний апарат людини

Вивчення цитогенетичних ефектів впливу мутагенезу на стан хромосомного апарату обумовлено тим, що оцінка стабільності функціонування генетичного апарату людини є одним з фундаментальних питань сучасної цитогенетики тому, що пов'язано з тим, що геномні пошкодження можуть складати основу порушень імунної системи, розвитку канцерогенезу, зниження тривалості життя. Мутагенні фактори являють собою засоби, що можуть викликати мутації або зміни в генетичному матеріалі. Вплив мутагенів на хромосомний апарат людини є значущим, оскільки він може призводити до пошкоджень або змін в хромосомах, що, в свою чергу, може впливати на різні аспекти клітинного функціонування та мати наслідки для здоров'я [18, 40].

Основні фактори, що можуть викликати мутації, включають: різноманітні хімічні сполуки, такі як забруднювачі, хімічні речовини виробництва, пестициди та інші хімічні речовини, можуть діяти як мутагени. До фізичних мутагенів відносяться рентгенівське та ультрафіолетове випромінювання та інші види випромінювання. Деякі віруси можуть викликати зміни в генетичному матеріалі клітин. Деякі речовини, що містяться в їжі, такі як афлатоксини (утворюються при рості грибів на продуктах), також можуть мати мутагенний ефект.

Важливо відзначити, що ефекти мутагенів можуть залежати від конкретного мутагену, тривалості впливу та інших факторів. Крім того,

клітини володіють різними механізмами виправлення помилок та захисту від мутацій, які сприяють збереженню стабільності генетичного матеріалу [45].

Негативний вплив мутагенів на хромосомний апарат може викликати різні хромосомні аномалії, такі як перебудови, дуплікації, втрати та інші зміни, що можуть призвести до розвитку різних генетичних захворювань та збільшити ризик виникнення певних хвороб, включаючи рак. Мутагенні хімічні сполуки можуть викликати мутації та хромосомні нестабільності, що може бути актуальним у виникненні аномалій у пацієнтів із психічними розладами. Вплив фізичних мутагенів, таких як випромінювання, може призвести до хромосомних змін, особливо в умовах психічного напруження. Деякі віруси, які можуть викликати мутації, можуть також впливати на хромосомний апарат у пацієнтів із депресією [6]. Безперечно єдина структурна основа спадковості визначає універсальний характер дії мутагенів на всі живі організми. В процесі індукованого мутагенезу між ними виникає позитивна кореляція, тому що мутації є результатом складних взаємодій між реплікацією, рекомбінацією і випадковими помилками в роботі репараційних систем. Саме тому нестабільність хромосом може виражати мутагенні процеси, які виникають під впливом факторів зовнішнього середовища.

Одним із важливих напрямків дослідження є вивчення прихованої хромосомної нестабільності, тому що важливу роль в дестабілізації геному людини має саме прихована хромосомна нестабільність при нормальному каріотипі, яка проявляється як гіперчутливість хромосом до дії мутагенів (блеоміцину, мітоміцину С, дімеотату) або іонізуючого випромінювання *in vivo* та *in vitro*. Прихована хромосомна нестабільність це феномен, при якому з плином часу в клітинах акумулюються множинні зміни, які сприяють переходу стабільного геному нормальних клітин до нестабільного геному, характерного для пухлинних клітин [38].

Властивості прихованої хромосомної нестабільності в пацієнтів з психічними розладами та вплив мутагенних чинників на хромосомний апарат людини є ключовими аспектами для розуміння генетичних особливостей

цього психічного розладу. Пацієнти з депресією можуть мати підвищену чутливість хромосом до мутагенів, що може призвести до збільшення ризику генетичних змін та мутацій [13].

Деякі форми депресії можуть впливати на ефективність механізмів репарації ДНК, які відповідають за виправлення пошкоджень генетичного матеріалу. Це може сприяти накопиченню мутацій та нестабільності хромосом. Депресія може впливати на експресію генів, включаючи ті, які контролюють процеси стабільності хромосом та репарації ДНК. Це може викликати аномалії у функціонуванні клітин та збільшити схильність до хромосомної нестабільності. Стан депресії може призвести до стресу та вираженого оксидативного стресу, що може впливати на стан хромосом. Підвищені рівні оксидативного стресу можуть сприяти утворенню хромосомних аберацій.

Розуміння цих аспектів є важливим для розробки стратегій попередження та лікування психічних розладів, зокрема через управління мутагенними чинниками та підтримку стабільності генетичного матеріалу в клітинах.

Таким чином, на підставі аналізу даних літератури можна зробити наступні висновки:

- Психічні розлади є доволі розповсюдженою та соціально-значущою патологією серед різних верств населення, в тому числі й підростаючого, серед яких відзначаються тривожно-фобічні та депресивні розлади;
- Тривожно-фобічні та депресивні розлади поширені серед людей різного віку, у тому числі серед підлітків, а перші епізоди можуть розвиватися ще у дошкільному віці. Частота тривожно-фобічних розладів та депресій невпинно збільшується особливо на тлі воєнних дій в Україні.
- Серед причин виникнення психічних розладів відзначають спадковість, зміни рівнів нейромедіаторів, порушення нейроендокринної функції, середовищні та психосоціальні чинники;

- Вагома роль у розвитку депресій належить генетичним факторам – ідентифіковано понад 100 варіантів генів, які можуть бути пов'язані з виникненням депресій. У людей з різними психічними розладами часто реєструється підвищення частоти спонтанних та індукованих мутацій.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Дизайн роботи

Цитогенетичне дослідження проводилось за типом «дослід 1, 2 – дослід 2, 2» та «контроль 1 – контроль 2», «дослід 1, 2 – контроль 1, 2». Для різних етапів дослідження було сформовано 4 вибірки обстежених осіб: у першу групу було включено хворих із тривожно-фобічними розладами, у другу групу – хворих з депресивними розладами. Діагноз тривожно-фобічного та депресивного розладів був установлений у відділенні психіатрії, цитогенетичний аналіз було проведено у лабораторії медичної генетики Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України». В третю вибірку було включено підлітків I і II груп здоров'я до 17 років, які також пройшли обстеження в Інституті і не мали психічних розладів та інших хронічних неінфекційних хвороб.

Генеральна сукупність була представлена підлітками до 17 років, які проживають у м. Харкові, та лімфоцитами їх периферичної крові (ЛПК).

Об'єкт дослідження – лімфоцити периферичної крові хворих і здорових пробандів.

Предмет дослідження – частота хромосомних порушень в лімфоцитах крові пробандів.

У вибірку було включено 20 хворих із тривожно-фобічними розладами (перша група) та 20 хворих із депресивними розладами (друга група), та 20 здорових однолітків (третя група) 11-17 років. В усіх пробандів аналізувалося від 100 до 300 метафазних пластинок до та після впливу мутагену-провокатора на лімфоцити периферичної крові. Таким чином було проаналізовано 3200 метафазних пластинок до та 2000 метафаз після впливу

мутагену в першій групі; 3320 метафаз до та 2000 після впливу мітоміцину С в другій групі, 2200 метафаз до і 2057 – після впливу у здорових однолітків.

2.2. Метод культивування лімфоцитів периферичної крові

Лімфоцити периферичної крові культивувалися за загальноприйнятою методикою згідно міжнародних рекомендацій [26, 44]. Культивування лімфоцитів проводили протягом 72 годин у термостаті при температурі $+37^{\circ}\text{C}$ у двох пробах. Методика передбачала виконання наступних етапів: культивування у суміші *PB-Max*, яка включала поживне середовище, фітогемагглютинін, ембріональну сироватку; безпосередньо культивування у термостаті; зняття культури (внесення р-ну колхіцину у концентрації 0,1 мкг/мл, центрифугування, внесення у суміш гіпотонічного р-ну (0,555 мл на 100 мл), центрифугування; триразова фіксація препаратів (3 частини 96° етилового спирту та 1 частина оцтової кислоти) та нанесення суміші на предметне скельце).

2.3 Метод постановки культури лімфоцитів крові із застосуванням мутагену-провокатора мітоміцину С

Для визначення можливої прихованої хромосомної нестабільності використовували додатковий мутагенний вплив на ЛПК хворих обох статей протипухлинним антибіотиком мітоміцином С. Мітоміцин С додається в культуру на 67-й годині інкубації. Подальше приготування хромосомних препаратів не відрізнялося від методики, описаної вище.

Мітоміцин С - цитостатичний препарат із групи протипухлинних антибіотиків, який пригнічує синтез ДНК, а при високих концентраціях синтез РНК і білка. Цей мутаген є активним у пізніх G_1 - і S-фазах мітозу і

здатний індукувати велику кількість хромосомних ушкоджень при нетоксичних дозових рівнях, тобто виражена активність мітоміцину С спостерігається в пізніх фазах мітозу (G_1 і S), викликаючи помилки зчитування інформації та пригнічуючи синтез відповідних коду білків шляхом ковалентного зв'язування з ДНК через алкільну групу. Механізм дії антибіотику пов'язаний з утворенням поперечних зшивок між нитками ДНК, тому він широко використовується при вивченні індукованого мутагенезу, використовувалася концентрація 3 мг/мл (рис.1).

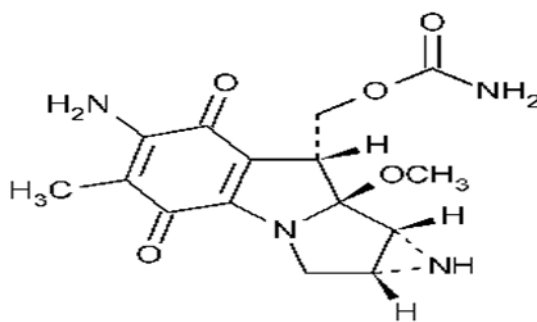


Рис. 1 Структура мітоміцину С

2.4. Аналіз препаратів хромосом

У кожного пацієнта аналізували від 100 метафазних пластинок, які містили 44+2 хромосоми. Були враховані всі аберації хроматидного та хромосомного типів, які можна було ідентифікувати під час групового каріотипування на рівномірно забарвлених препаратах метафазних хромосом; геномні порушення були виділені окремо.

Отримані препарати метафазних хромосом шифрували і аналізували "сліпим методом" на бінокулярному мікроскопі Leica CME (Австрія), окуляр 10x18, об'єктив 100x, бінокулярна насадка 1,25x.

2.5. Об'єктивність аналізу препаратів хромосом

Хромосоми аналізуються на зашифрованих препаратах.

2.6. Стандарти аналізу препаратів хромосом

При аналізі препаратів використовували загальновідомі стандарти:

- всі хромосоми розташовані у межах метафазної пластинки без накладень;
- хромосоми мають середню ступінь спіралізації, що забезпечує чітке виявлення хроматид і центромер усіх хромосом.

2.6. Вимоги Комітету з біоетики та деонтології до проведення цитогенетичних досліджень

Комітет з біоетики та деонтології ІОЗДП НАМ України встановив ряд вимог для проведення цитогенетичних досліджень, які спрямовані на забезпечення етичних стандартів та дотримання прав та гідності учасників дослідження. Зазначені вимоги включають:

- Дотримання принципів Гельсінської декларації прав людини: всі етапи дослідження повинні ґрунтуватися на основних принципах Гельсінської декларації, забезпечуючи захист прав та добробут учасників дослідження.
- Дотримання Конвенції Ради Європи про захист прав і гідності людини щодо застосування в біології та медицині: всі аспекти дослідження повинні відповідати стандартам та принципам, визначеним у зазначеній конвенції.
- Відповідність законам України: всі аспекти дослідження мають відповідати чинному законодавству України, забезпечуючи легальність та правовий захист учасників.

- Дотримання принципів біоетики: дослідження повинно враховувати принципи біоетики, такі як принципи справедливості, невід'ємності та суспільної згоди.
- Визначення ризиків та використання мінімальної кількості матеріалу: дослідницька група зобов'язана ретельно оцінити можливі ризики для учасників дослідження та використовувати мінімальну кількість біологічного матеріалу, необхідного для досягнення наукових цілей.
- Схвалення Комітетом з біоетики та деонтології: всі плани дослідження та методики повинні бути схвалені Комітетом з біоетики та деонтології перед їх виконанням.
- Захист конфіденційності та приватності: забезпечення нерозголошення особистої інформації учасників дослідження та збереження конфіденційності результатів.

Отже, ці вимоги призначені для гарантування етичності, законності та безпеки при проведенні цитогенетичних досліджень.

2.8. Статистичний аналіз даних

Аналіз отриманих даних було виконано за допомогою пакету програм Excel. Для оцінки достовірності відмінностей між різними групами порівняння використовували критерій Стьюдента [1, 16].

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Статистичні гіпотези

Дослідження виконували на основі 2 гіпотез:

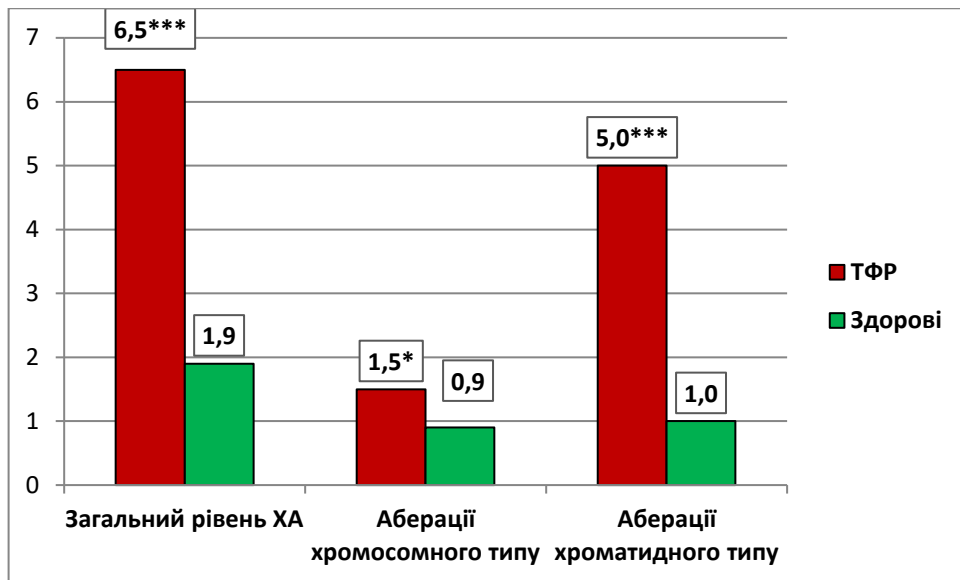
- **Гіпотеза 1:** H0: Середні значення кількості хромосомних порушень у групі хворих з тривожно-фобічними розладами та здорових підлітків не відрізняються.
- H1: Середні значення кількості хромосомних аномалій у групі хворих з депресією та здорових підлітків не відрізняються.
- Є статистично значуща відмінність у середніх значеннях кількості хромосомних аберацій у хворих з тривожно-фобічними розладами та здоровими підлітками.
- Є статистично значуща відмінність у середніх значеннях числа хромосомних аномалій між групою хворих з депресією та контрольною групою.
- **Гіпотеза 2:**
 - H0: Розподіл типів хромосомних аномалій в групі хворих з тривожно-фобічними розладами є однаковим за розподілом в контрольній групі.
 - H1: Розподіл типів хромосомних аномалій в групі хворих з депресією є однаковим за розподілом в контрольній групі.
 - Є статистично значущі відмінності у розподілі типів хромосомних аномалій між групами хворих з тривожно-фобічними розладами і депресією та контрольною групою.

3.2. Аналіз цитогенетичних показників в лімфоцитах крові підлітків із тривожно-фобічними розладами порівняно з їх частотою у здорових підлітків

Вивчення цитогенетичних особливостей *in vitro* спрямовано на виявлення індукції хромосомних аномалій у культивованих клітинах, зокрема лімфоцитах периферичної крові, які однорідно розподілені та перебувають у фазі клітинного циклу (G_0). Цей метод є одним з найбільш розроблених, стандартизованих та широко використовуваних, дозволяючи об'єктивно порівнювати отримані результати з даними інших дослідників. У цитогенетичних тестах аналізується весь геном напряду, що має велике значення при дослідженні специфічних регіонів (гарячих точок). Ще однією перевагою є те, що ці методи виконуються швидко та з невеликими витратами.

Цитогенетичний аналіз, проведений у хворих із ТФР свідчив про нормальний жіночий (46,XX) або чоловічий (46,XY) каріотиби. В попередніх дослідженнях було встановлено відсутність достовірних відмінностей у частоті хромосомних порушень у дівчат та хлопців із ТФР, тому всі хворі були об'єднані у одну групу. Частота спонтанного рівня ХА в ЛПК хворих із ТФР дорівнювала 6,5%, що в 3,4 рази перевищувало частоту ХА у здорових підлітків (1,9%, $p < 0,001$) (рис. 1).

Встановлено, що у хворих підлітків спонтанна частота аберацій хроматидного і хромосомного типів також вірогідно перевищувала спонтанну частоту цих порушень у здорових однолітків з високим ступенем значущості. Частота аберацій хромосомного типу в ЛПК підлітків із ТФР дорівнювала 1,5% проти 0,9% у здорових осіб, $p < 0,05$; хроматидного типу – 5,0% проти 1,0%, $p < 0,001$ відповідно.



Примітки: Достовірність розбіжностей: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$.

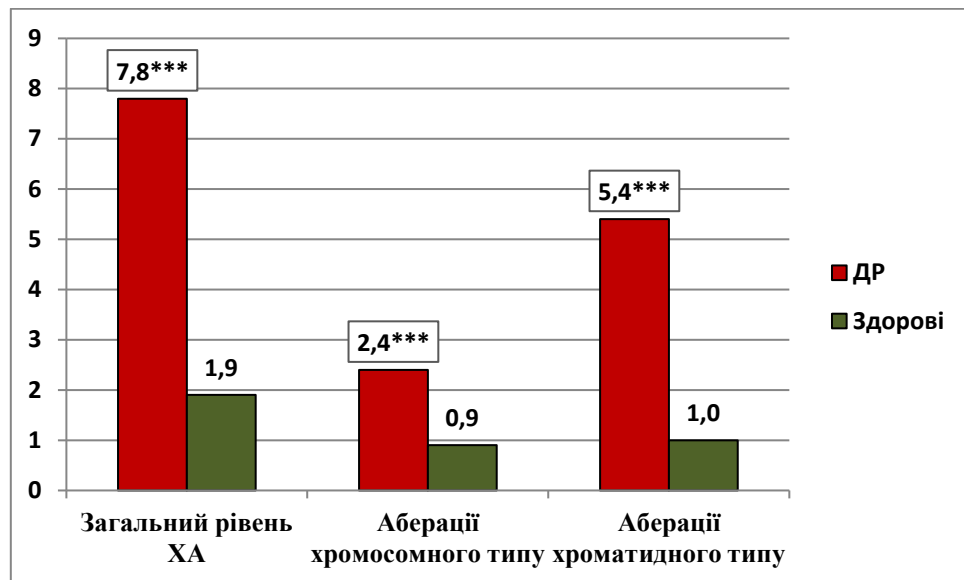
Рис. 1 Порівняння частоти ХА в лімфоцитах крові у хворих із ТФР (n=20) і здорових однолітків (n=20), %

Аналіз окремих типів хромосомних порушень у хворих з ТФР та здорових однолітків показав достовірне переважання одиночних ацентричних фрагментів у 4,7 разів в ЛПК хворих (4,9% проти 1,05% відповідно, $p < 0,001$). Серед аберацій хромосомного типу у хворих підлітків частіше виявлялися парні ацентричні фрагменти (1,4% проти 0,9% у здорових однолітків, $p > 0,05$); дицентричні та кільцеві хромосоми реєструвалися лише в ЛПК хворих із ТФР (0,06% та 0,03%).

Отже, виявлено достовірні розбіжності у загальній частоті хромосомних аберацій та аберацій хроматидного типу у хворих із ТФР порівняно зі здоровим однолітками і нульова гіпотеза відкидається з високим ступенем достовірності.

3.3. Визначення каріотипу та можливих порушень хромосом в лімфоцитах крові підлітків з депресією та здорових однолітків

Загальний рівень ХА в ЛПК підлітків з ДР дорівнював 7,8%, що вчетверо перевищувало частоту хромосомних ушкоджень в лімфоцитах крові здорових однолітків (рис.2).



Примітка. Достовірність розбіжностей: *** - $p < 0,001$

Рис. 2 Порівняння хромосомних аберацій в лімфоцитах крові хворих із депресією та здорових однолітків, %

Аберації хромосомного (2,4% проти 0,9% у здорових осіб, $p < 0,001$) та хроматидного (5,4% проти 1,0% у здорових осіб, $p < 0,001$) типу також превалювали в ЛПК хворих підлітків. Серед аберацій хромосомного типу частіше виявлялися парні ацентричні фрагменти (2,3% проти 0,9% у здорових однолітків, $p < 0,001$) та дицентричні хромосоми (0,12% проти 0,00% у здорових однолітків, $p < 0,01$); серед аберацій хроматидного типу – одиночні ацентричні фрагменти (5,4% проти 1,0% у здорових однолітків, $p < 0,001$) (рис. 3 - 5).



Рис. 3 Метафазна пластинка хворого з депресією: 1 – парний ацентричний фрагмент, 2 – подовження центромери (підготовка до розриву), 3 – одиночний ацентричний фрагмент

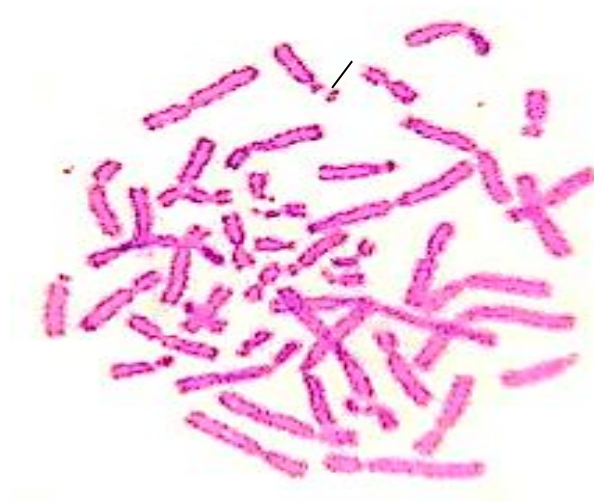


Рис. 4 Метафазна пластинка хворої з депресією: парний ацентричний фрагмент хромосоми з групи В

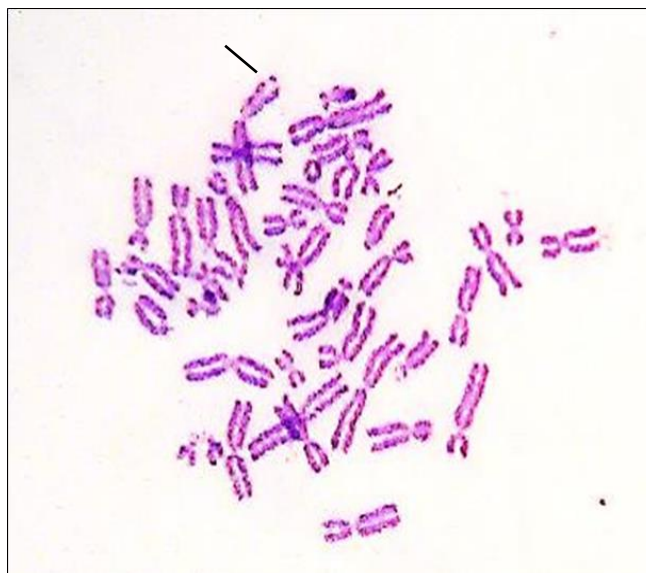


Рис. 5 Одиночний ацентричний фрагмент хромосоми з групи А
(хромосома 2)

Таким чином, у підлітків із ДР відмічено високий рівень ХА в ЛПК порівняно зі здоровим однолітками як у загальній кількості, так і у частоті аберацій хромосомного та хроматидного типів, що свідчить про те, що нульова гіпотеза відкидається з високим ступенем достовірності.

3.4. Характеристика цитогенетичних показників у лімфоцитах крові здорових підлітків

У всіх обстежених здорових підлітків встановлено нормальний чоловічий (46,XY) або жіночий (46,XX) каріотип (табл. 1).

Таблиця 1

Індивідуальна характеристика здорових підлітків

№	Пробанд	Вік, років	Кількість метафазних пластинок	Каріотип	Число АХ	Частота хромосомних аберацій на 100 клітин
1	А. С.	15	100	46,XX	1	1,0
2	Б. В.	14	100	46,XX	5	5,0
3	Г. А.	17	100	46,XY	1	1,0
4	Г. Є.	16	100	46,XY	1	1,0
5	Д. В.	15	100	46,XY	1	1,0
6	І. О.	17	200	46,XX	4	2,0
7	І. Л.	15	100	46,XX	0	0,0
8	К. М.	11	100	46,XX	1	1,0
9	Л. О.	14	100	46,XY	5	5,0
10	М. О.	15	100	46,XX	1	1,0
11	О. О.	15	100	46,XY	1	1,0
12	П. А.	14	100	46,XY	3	3,0
13	Р. А.	14	100	46,XX	1	1,0
14	С. А.	14	100	46,XX	4	4,0
15	С. Н.	13	100	46,XX	1	1,0
16	Т. І.	14	100	46,XX	4	4,0
17	Х. Д.	13	100	46,XX	0	0,0
18	Х. О.	16	100	46,XY	1	1,0
19	Ч. М.	16	200	46,XX	7	3,5
20	Ш. К.	11	100	46,XX	0	0,0
Всі пробанди		Середній вік - 14,45	Всього метафаз 2200	46,XY або 46,XX	Всього – 42	Середня частота 1,9

Середня частота ХА у ЛПК здорових підлітків склала $1,9 \pm 0,29$ на 100 клітин. Частота аберацій хроматидного типу в 1,2 рази перевищувала частоту аберацій хромосомного типу (1,05 : 0,86). У трьох здорових підлітків

було виявлено повну відсутність хромосомних аберацій; у чверті пробандів, а саме у п'яти осіб було знайдено перевищуючу популяційний рівень кількість ХА (до 3 %) (від 3,5 до 5 аберацій на 100 клітин).

При аналізі хромосомних аберацій різних типів у ЛПК здорових підлітків встановлено 23 одиночні ацентричні фрагменти (1,05 %) та 19 парних ацентричних фрагментів (0,86 %) (табл. 2).

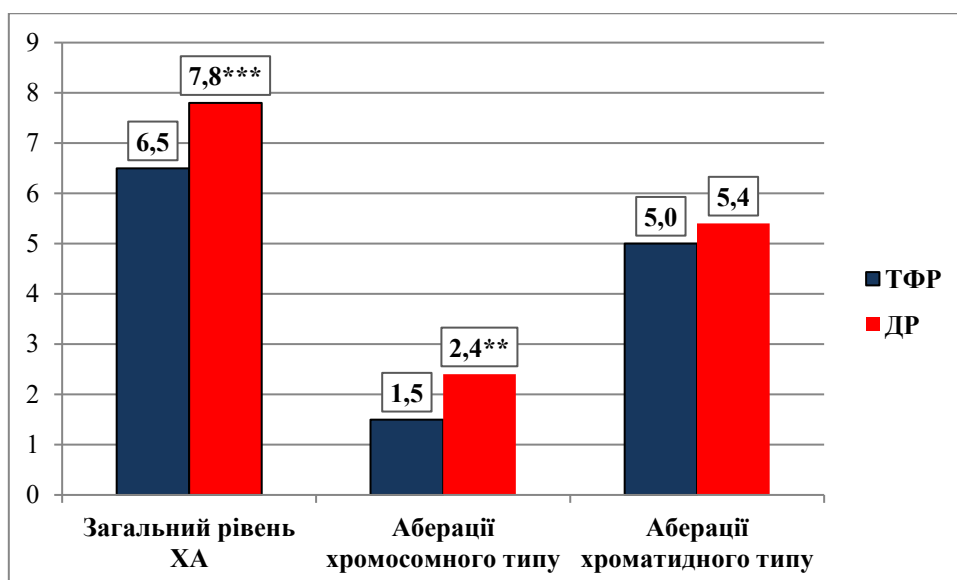
Таблиця 2

Частота та типи хромосомних аберацій у лімфоцитах периферичної крові здорових підлітків (n=20)

Типи хромосомних аберацій	Кількість метафазних пластинок	
	n=2200	
	Загальна кількість,	%±s%
хроматидного типу:	23	1,05 ± 0,22
• одиночні ацентричні фрагменти	23	1,05 ± 0,22
хромосомного типу:	19	0,86 ± 0,20
• парні ацентричні фрагменти	19	0,86 ± 0,20
Всього ХА	42	1,91 ± 0,29

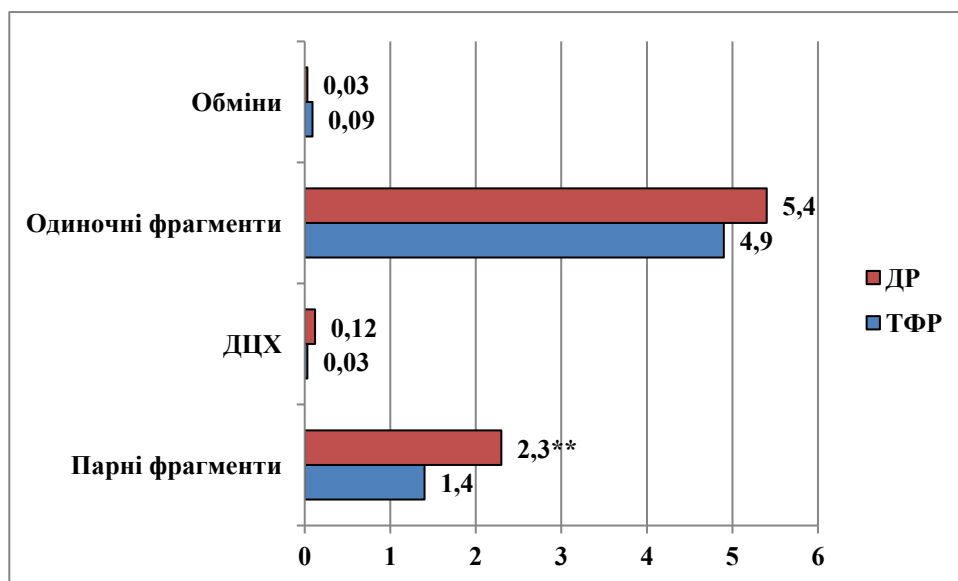
3.5. Порівняння частоти хромосомних порушень у лімфоцитах крові підлітків з тривожно-фобічними і депресивними розладами

При порівнянні спонтанної частоти хромосомних порушень в ЛПК хворих із ТФР та ДР встановлено більш високу частоту як загального рівня ХА, так і аберацій хромосомного типу у підлітків із ДР порівняно з частотою у хворих із ТФР за рахунок збільшення числа парних ацентричних фрагментів (рис. 6, 7).



Примітки: достовірність розбіжностей: ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

Рис. 6 Порівняння хромосомних аберацій в лімфоцитах крові хворих із ТФР та депресією, %



Примітка. Достовірність розбіжностей: ** - $p < 0,01$

Рис. 7 Порівняння окремих типів хромосомних аберацій в лімфоцитах крові хворих із ТФР та депресією, %

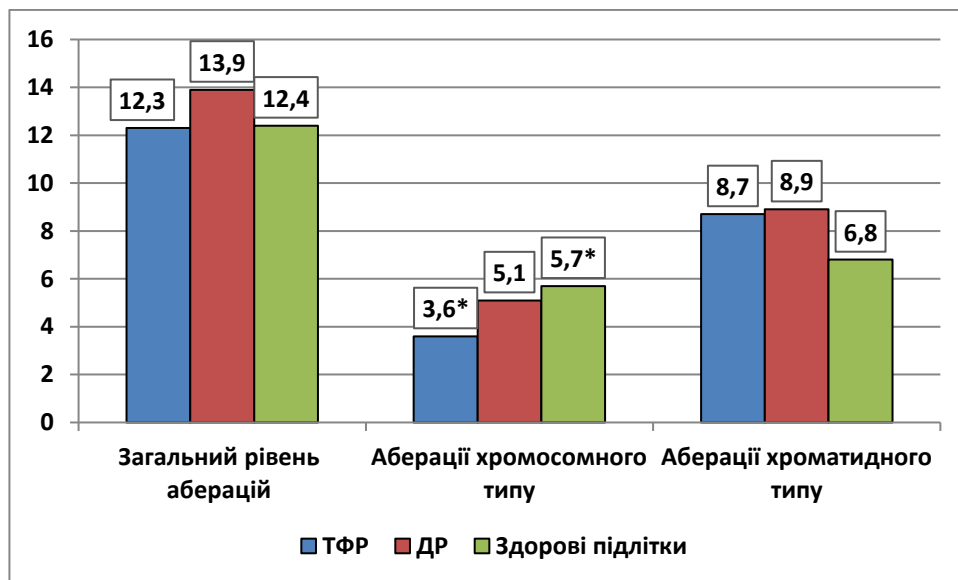
В обох групах в ЛПК хворих виявлялися дицентричні хромосоми (ДЦХ) та хроматидно-ізохроматидні обміни.

Таким чином, цитогенетичний аналіз, проведений у підлітків з психічними розладами (тривожно-фобічними та депресивними) дали змогу виявити підвищений рівень хромосомних аберацій в лімфоцитах периферичної крові хворих порівняно з їх частотою у здорових однолітків за рахунок аберацій хромосомного та хроматидного типів, але відсутність достовірних розбіжностей у спонтанні частоті хромосомних порушень між хворими з ТФР та ДР.

3.6. Оцінка впливу мутагену-провокатора на лімфоцити периферичної крові хворих з психічними розладами та здорових дітей

Враховуючи високий рівень спонтанного мутагенезу в лімфоцитах крові хворих на тривожно-фобічні та депресивні розлади, було вільно відібрано групи, що включають 20 пробандів хворих із ТФР, 20 із ДР та 20 здорових однолітків, у яких проводилася оцінка індукованого мутагенезу за допомогою мутагену-провокатора мітоміцину С.

Після впливу мутагеном на ЛПК загальна частота хромосомних аберацій на 100 клітин стала становити 12,3% у хворих із ТФР, 13,9% у підлітків із ДР та 12,4% у здорових однолітків (рис. 8).

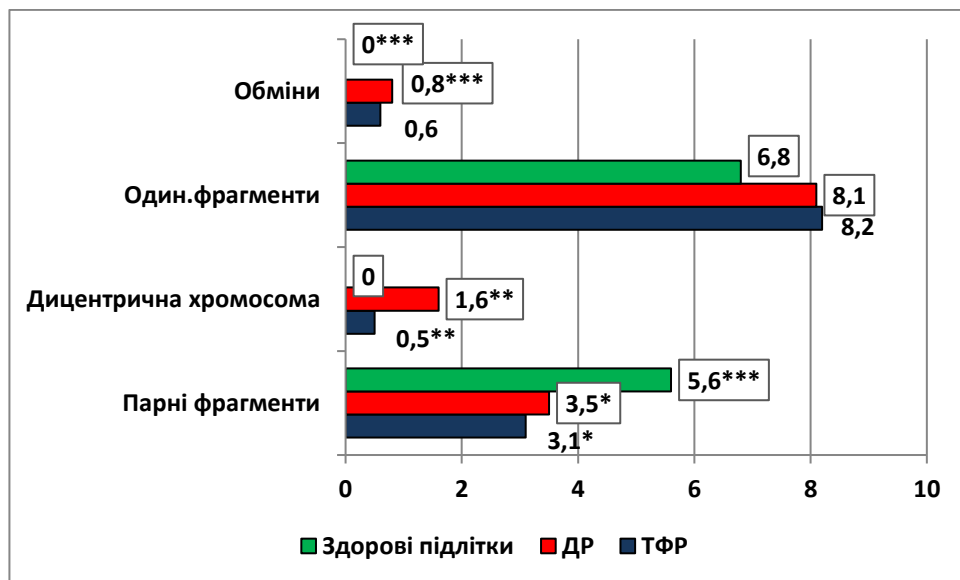


Примітка. Достовірність розбіжностей: * – $p < 0,05$.

Рис. 8 Порівняння рівня хромосомних аберацій в лімфоцитах крові підлітків з ТФР, ДР та здорових однолітків внаслідок впливу мутагену-провокатора, %

Частота аберацій хромосомного типу після впливу мутагену на ЛПК була достовірно вищою у здорових підлітків порівняно з частотою у хворих із ТФР ($p < 0,05$), в той час як частота аберацій хроматидного типу в трьох групах порівняння не розрізнялась (див. рис.8).

Аналізуючи різні види хромосомних аберацій у хворих з психічними розладами, встановили, що серед аберацій хроматидного типу виявлялися одиночні ацентричні фрагменти та хроматидно-ізохроматидні обміни, а серед аберацій хромосомного типу - парні ацентричні фрагменти, дицентричні хромосоми; інших видів ХА не виявлено. У хворих на ТФР та ДР після впливу мутагеном-провокатором на лімфоцити крові серед аберацій хроматидного типу основну кількість складали одиночні ацентричні фрагменти, також зустрілося хроматидно-ізохроматидні обміни; серед аберацій хромосомного типу були виявлені парні ацентричні фрагменти та дицентрики (рис. 9).



Примітка. Достовірність розбіжностей: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$.

Рис. 9 Порівняння різних типів хромосомних аберацій в лімфоцитах крові підлітків із ТФР, ДР та здорових однолітків внаслідок впливу мутагену-провокатора, %

Отже, у хворих із ТФР та ДР після впливу мутагеном-провокатором мітоміцином С на лімфоцити крові була виявлена підвищена частота ХА порівняно зі спонтанним рівнем хромосомних ушкоджень. В усіх хворих із ТФР після впливу мітоміцином С на лімфоцити крові встановлено різний

рівень хромосомних аберацій, який коливався від 6 до 19 аберацій хромосом на 100 клітин, у хворих із ДР – від 5 до 22 АХ на 100 клітин, у здорових підлітків – від 0 до 30 на 100 клітин. На рисунку 10 надано індивідуальну частоту рівня хромосомних аберацій у підлітків з ТФР до та після впливу мутагеном-провокатором на ЛПК.

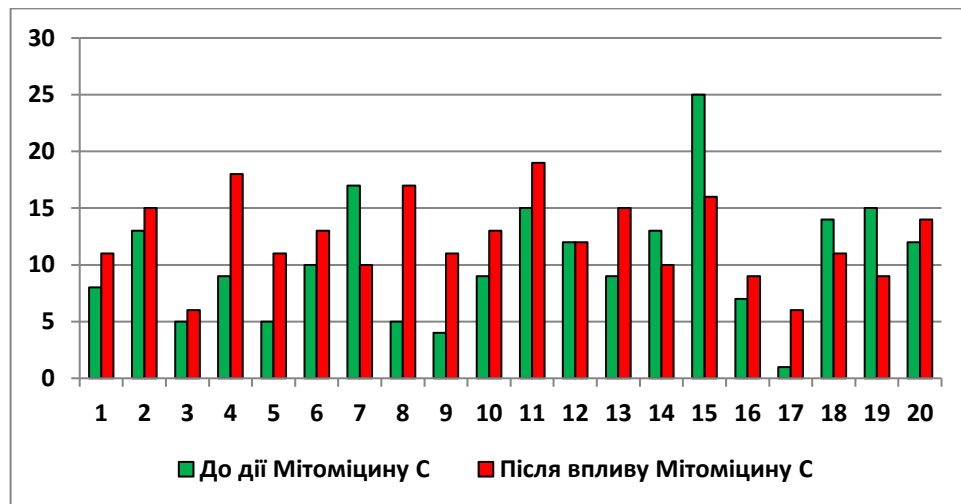


Рис. 10 Індивідуальна частота хромосомних аберацій в лімфоцитах крові підлітків із тривожно-фобічними розладами, %

Індивідуальна частота рівня хромосомних аберацій у підлітків з депресією до та після впливу мутагену-провокатора на ЛПК надана на рис.11.

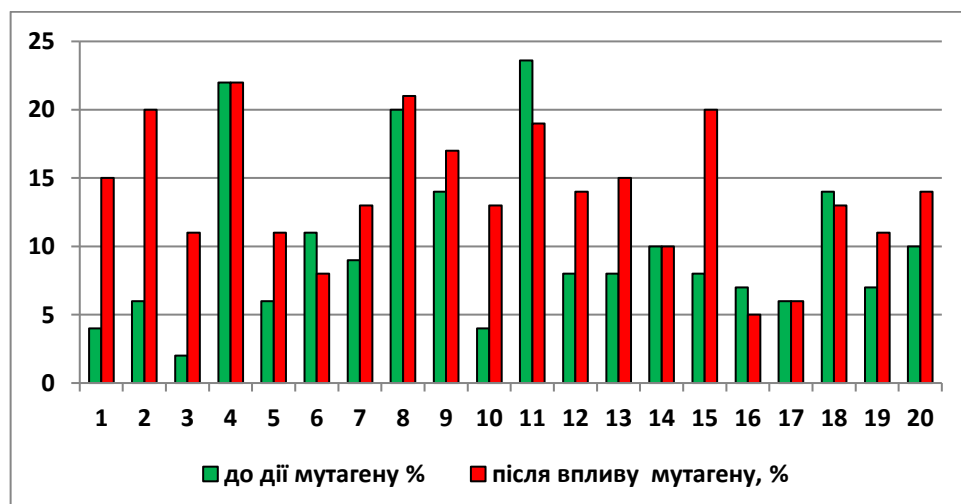


Рис. 11 Індивідуальна частота хромосомних аберацій в лімфоцитах крові підлітків із депресією, %

При порівнянні індивідуальної чутливості лімфоцитів крові хворих із тривожно-фобічними та депресивними розладами до дії мутагену-провокатора мітоміцину С встановили підвищену частоту аберацій хромосом у 55% підлітків з ДР (11 з 20 обстежених) проти 10% хворих із ТФР (2 з 20 обстежених). При цьому у 6 хворих з психічними розладами рівень ХА був однаковим (30%), а у 2 хворих із ТФР рівень АХ був вищим за такий у хворих із ДР (5%) (рис.12).

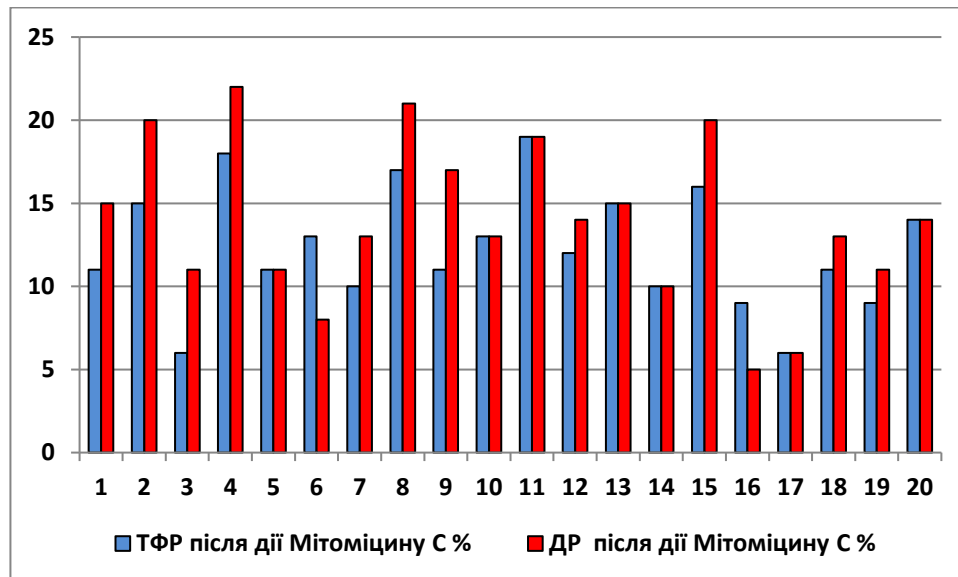


Рис.12 Порівняння індивідуальної чутливості лімфоцитів крові хворих із ТФР та ДР на дію мутагену-провокатора мітоміцину С, %

Таким чином, результати проведеного дослідження свідчать про важливість генетичного аспекту у формуванні психічних розладів та вказують на необхідність подальших досліджень для глибшого розуміння цього складного взаємозв'язку. Це дослідження може відкрити нові перспективи для розробки індивідуальних стратегій лікування та попередження психічних розладів у підлітків, зокрема, шляхом корекції генетичних факторів, що сприяють хромосомній нестабільності.

В експонованих культурах здорових пробандів визначено збільшення частоти аберацій як хроматидного, так і хромосомного типів, однак статистично значуще збільшення надспонтанного рівня ХА у здорових осіб свідчило про зниження адаптивного відгуку у пробандів із тривожно-фобічними та депресивними розладами.

Слід відмітити, що незважаючи на численні дослідження генетична природа тривожно-фобічних та депресивних розладів залишається невизначеною до сьогоднішнього часу. Загалом вважається, що багато патологічних станів, пов'язаних із структурними змінами ДНК, характеризуються порушенням розвитку і функціонування центральної нервової системи (ЦНС). Геномні перебудови, виявлені на субмікроскопічному і мікроскопічному рівнях, є однією з найпоширеніших причин нервових і психічних захворювань. У випадку окремих мультифакторних захворювань ЦНС специфічні варіації геному часто виявляються значно частіше, ніж у контрольній групі.

Щодо причин виникнення окремих ХА (парні фрагменти, кільця, обміни), відомо, що вони можуть утворюватися в G_0 та G_1 фазах мітозу, коли хромосома діє як одониткова структура, а поодинокі фрагменти та обміни хроматид формуються наприкінці G_1 , S і/або G_2 фаз клітинного циклу. Не виключається вплив температури, ультрафіолетового випромінювання, радіації, хімічних речовин, окремих лікарських препаратів і біологічних факторів на формування структурних перебудов хромосом. Також слід враховувати епігенетичні (метилування ДНК) причини формування хромосомної нестабільності, що може виникати внаслідок зниження активності геномних захисних систем і збільшення інтенсивності процесів ендомутагенезу під впливом патологічного процесу, що розвивається [39].

Таким чином, цитогенетичний аналіз виявив достовірні відмінності у частоті аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові хворих із психічними розладами та здорових підлітків до впливу мітоміцину С, проте не виявив значущих відмінностей у загальній кількості хромосомних

аберацій після впливу мутагену. Разом з тим, встановлено індивідуальну чутливість лімфоцитів периферичної крові хворих з ТФР, ДР. Отримані дані можуть свідчити про зниження адаптивного відгуку на вплив мутагену-провокатора у підлітків із психічними розладами.

ВИСНОВКИ

Цитогенетичне дослідження, проведене у хворих підлітків з тривожно-фобічними та депресивними розладами, свідчило про підвищений рівень хромосомних аберацій в лімфоцитах їх крові порівняно з частотою здорових однолітків. Виявлено індивідуальну приховану хромосомну нестабільність у хворих з психічними розладами.

1. Каріотип у всіх обстежених пробандів відповідав нормальному жіночому (46,XX) або чоловічому (46,XY). Загальний рівень хромосомних аберацій в лімфоцитах крові підлітків із тривожно-фобічними розладами складав 6,5%, а у підлітків із депресивними розладами – 7,8%, що майже вдвічі перевищувало рівень хромосомних аберацій у здорових однолітків (1,9%).

2. Серед хромосомних порушень у підлітків із тривожно-фобічними та депресивними розладами переважали аберації хромосомного (парні ацентричні фрагменти) та хроматидного (одиначні ацентричні фрагменти) типів при порівнянні з їх частотою у здорових однолітків ($p < 0,001$).

3. У хворих із тривожно-фобічними розладами після впливу мутагену-провокатора мітоміцину С на лімфоцити крові *in vitro* число хромосомних аберацій становило 12,3%, що в 1,9 разів перевищувало загальний рівень аберацій хромосом до дії мутагену.

4. У підлітків із депресивними розладами після дії мутагену-провокатора мітоміцину С на лімфоцити крові *in vitro* рівень хромосомних порушень збільшився до 13,9% за рахунок аберацій хроматидного (одиначних ацентричних фрагментів) та хромосомного (парних ацентричних фрагментів) типів.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Атраментова Л. О., Утевська О. М. Статистичні методи в біології: Підручник. – Х.: ХНУ ім. В.Н. Каразіна, 2007; 288 с.
2. Багацька Н.В. Генетичні особливості у хворих з депресивним розладом // Охорона здоров'я дітей та підлітків: збірник наукових робіт. 2022; 1-2: 13-19. <http://journal.iozdp.org.ua> // journal.iozdp.org.ua
3. Багацька Н.В. Цитогенетичні особливості у підлітків з депресією з обтяженим сімейним анамнезом з психічних розладів. «European scientific discussions»: VI межд. Навч.-практ. конф.:The 6 th International scientific and practical conference. Rome, Italy. 2021; 30-35. <https://sci-conf.com.ua/vi-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferentsiya-european-scientific-discussions-25-27-aprelya-2021-goda-rim-italiya-arhiv/>
4. Багацька Н.В., Свидан І. Гх. Обтяжений сімейний анамнез – фактор ризику формування депресивних розладів у дитячому та підлітковому віці. . Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики: Зб. наук. пр., Київ – Луганськ, 2014; 27: 369-378.
5. Багацька Н.В. Оцінка рівня хромосомних аберацій у лімфоцитах крові хворих з різними формами тривожних розладів *in vitro*. Вісник проблем біології і медицини. 2018; 4, 2 (147): 124-127. doi: 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-124-127.
6. Берестяна А.М. Роль мутагенних факторів в процесі старіння живих організмів. Науковий вісник Ужгородського університету: Серія: Біологія. гол. ред. В.І. Ніколайчук. Ужгород: Вид-во УжНУ «Говерла», 2011; 30. 118–127.
7. Булах І.С. Психологія особистісного зростання підлітка: Монографія. Київ: НПУ імені М.П. Драгоманова, 2003; 340 с.
8. Каландія Г.Т., Родченко Л. Психологічні особливості прояву та динаміки перебігу депресивних станів особистості. Наукові праці

Міжрегіональної академії управління персоналом. Психологія. 2024; 1 (62):5-9. DOI <https://doi.org/10.32689/maup.psych.2024.1.1>

9. Марута Н.А. Невротичні депресії (клініка, патогенез, діагностика та лікування): Монографія. Х : «Арсис, ЛТД», 2002; 144 с.

10. Марценковський Д.І., Марценковський І.А. Депресія у дітей та підлітків унаслідок психологічної травматизації. Міжнародний неврологічний журнал. 2021; 17(4). 31-39. doi: <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.22141/2224-0713.17.4.2021.237601>

11. Михайлова Е.А., Багацька Н.В., Матковська Т.М., Мительов Д.А., Глотка Л.І. Клініко – біологічний аспект депресивного розладу поведінки у підлітків. Вісник проблем біології і медицини. 2020; 1(155): 337-341. doi: 10.29254/2077-4214-2020-1-155-337-341.

12. Проскуріна Т.Ю. Тревожно-фобічні розлади у підлітків // Укр. вісник психоневрології. 2010; 18, 3 (64): 51–54.

13. Свидан І.Г. Зрівняння рівня спонтанного мутагенезу у дітей двох полів з депресивними розладами. Вісн. ХНУ ім. В.Н. Каразіна. 2014; 18, №1079, (Серія Біологія): 81–86.

14. Свидан І.Г. Генеалогічна і цитогенетична характеристика депресій у дітей і підлітків: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.15. К., 2015: 24 с.

15. Сохор Н., Ясній О., Смашна О., Гашімова Н. Вплив війни та вимушеного переселення на психічне здоров'я дітей і підлітків (огляд літератури). Психосоматична медицина та загальна практика. 2024; 15, 9(1). <https://uk.e-medjournal.com/index.php/psp/article/view/471>

16. Староста В.І. Методологія наукових досліджень: навчально-методичний посібник для самостійної роботи здобувачів освіти. Ужгород: ДВНЗ «УжНУ», 2021: 64 с.

17. Щербакова О.О, Кондрацька Л.В., Беженська А.А. Вікові особливості психоемоційного стану підлітків в умовах війни. Вікова та педагогічна психологія. 2023; 55, 67-74. DOI <https://doi.org/10.32782/2663-5208.2023.55.11>

18. Bagatska N.V. Reaction of peripheral blood lymphocytes of adolescents with depression to chemical mutagen *in vitro*. Вісник проблем біології і медицини. 2022; 3 (166): 100-104. doi 10.29254/2077-4214-2022-3-166-100-104.
19. Bosch X. Anxiety disorders linked to gene abnormality. British Medical Journal. 2001; 323:323-360.
20. Caraush I.S, Kupriyanova I.E. Trevognie rasstroystva u detey i podrostkov (obzor literatury). Obozrenie psichiatrii i meditsinskoy psihologii. 2014; 2: 25-33.
21. Davis J. Theories of biological etiology of affective disorders. International Review of Neurobiology. 1970; 12:145 – 175.
22. Eley T.C. Parental vulnerability, family environment and their interactions as predictors of depressive symptoms in adolescents // Child and Adolesc. Psychiatry. 2004; 43: 298—306.
23. Fyer A.J., Mannuzza S., Chapman T.F., Liebowitz M.R., Klein D.F. A direct interview family study of social phobia // Arch. Gen. Psychiatry. 1993; 50: 286-293.
24. Gorman J.M., Kent J.M., Sullivan G.M., Coplan J.D. Neuroanatomical hypothesis of panic disorder // Revised. Am. J. Psychiatr. 2000; 157: 493-505. <https://sci-conf.com.ua/vi-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferentsiya-european-scientific-discussions-25-27-aprelya-2021-goda-rim-italiya-arhiv/>.
25. ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. 2013;140 p.
26. Jonassen R., Landrø N. I. Serotonin transporter polymorphisms (5-HTTLPR) in emotion processing: implications from current neurobiology. Prog. Neurobiol. 2014;117:41–53.
27. Kaplan M.I, Limoli C.L, Morgan W.F. Perpetuating radiation-induced chromosomal instability. Radiat. Oncol. Invest. 1997; 5:124-128.

28. Kendler K.S. Genetic risk number of previous depressive episodes and stressful life events in predicting the onset of major depression. *Am. J. Psychiatry*. 2001;158:582–586.
29. Kishi T., Yoshimura R., Fukuo Y [et al.] The CLOCK gene and mood disorders: a case-control study and meta-analysis. *Chronobiol. Int.* 2011; 28, 9: 825-33.
30. LeDoux J. Fear and the brain: where have we been, and where are we going? *Biol. Psychiatr.* 1998; 44: 1229-1238.
31. Levey D.F., Polimanti R., Cheng Z. Genetic associations with suicide attempt severity and genetic overlap with major depression. *Transl. Psychiatry*. 2019; 9,1: 22.
32. Mancini C., Van Ameringen M., Szatmari P. et al. A high-risk pilot study of the children of adults with social phobia. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry*. 1996; 35:1511-1517.
33. Mannuzza S., Schneier F. R., Chapman T. F. et al. Generalized social phobia: reliability and validity. *Generalized social phobia: reliability and validity. Arch Gen Psychiatry*. 1995; 52: 230-237.
34. Mihailova EA, Proskurina Tu. *Depressia u detey i podrostkiv* // Kh.: Stil-Izdat. 2016; 626 s.
35. Morgun V.V., Yakymchuk R.A., Azizov I.V. Peculiarities of the mechanisms of spontaneous, and induced by ionizing radiation and chemical factors mutagenesis. *Plant physiology and genetics*. 2019; 51(6): 463-481. DOI: 10.15407/frg2019.06.463
36. Pakhalina I.A. Some biochemical aspects of the formation of genome instability in patients with cerebral palsy [dissertation]. K., 2009; 124 p.
37. Ryabchenko N., Domina E. Radiation-induced instability of human genome. *Problemy radiatsiinoi medytsyny ta radiobiologii. Probl. Radiac. Med. Radiobiol.* 2014;19. 48-58.
38. Sartorius N. Depression: The global aspects of the problem. *WPA Bulletin on Depression*. 2003; 6, 25:3-4.

39. Saveanu R.V., Nemeroff C.B. Etiology of depression: genetic and environmental factors. *The Psychiatric Clinics of North America*. 2012; 35,1: 51–71.
40. Shadrina M. Bondarenko E. A., Slominsky P. A. Genetics Factors in Major Depression Disease. *Front Psychiatry*. – 2018;9: 334.
41. Shaer L.G., McGowan-Jordan J., Schmid M. *ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature Recommendations*. Switzerland, Basel: Karger Publishers. 2013:140.
42. Słoczyńska K., Powroźnik B., Pękala E., Waszkielewicz A.M. Antimutagenic compounds and their possible mechanisms of action. *Appl. Genet*. 2014; 55(2): 273-85. DOI: 10.1007/s13353-014-0198-9
43. Smoller Jordan W. The Genetics of Stress-Related Disorders: PTSD, Depression, and Anxiety Disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2016; 41, 1:297.
44. Stein M.B., Chartier M.J., Hazen A.L. et al. A direct-interview family study of generalized social phobia. *Am. J. Psychiatry*. 1998; 155:90-97.
45. Straube T., Glauer M., Dilger S. et al.. Effects of cognitive-behavioral the brain activation in specific phobia. *Neuroimage*. 2006; 29:125-135,162. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2005.07.007
46. The global strategy for women's, children's, and adolescents' health briefing note (2016–2030). Sustainable development «Goals». 2015:103. Available from: <http://www.everywomaneverychild.org>
47. Wickramaratne P.J. Psychiatric disorders in the relatives of probands with prepubertal-onset or adolescent-onset major depression. *Ibid*. 2000; 39(11): 1396–405.
48. Zhao X., Sun L., Sun Y. H. [et al. Association of HTR2A T102C and A-1438G polymorphisms with susceptibility to major depressive disorder: a meta-analysis. *Neurol. Sci*. 2014; 35,12: 1857-1866.
49. Zou Z, Qiu J, Huang Y, Wang J, Min W, Zhou B. The *BDNF Val66Met* gene polymorphism is associated with increased alexithymic and

anticipatory anxiety in patients with panic disorder. *Psychol Health Med.* 2019; 24(4):505-511. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30269521>

50. Chen, Y. et al. (2025). Chromosomal instability in adolescents with major depressive disorder: A cytogenetic study. *Journal of Psychiatric Genetics*, 18(2), 103–112.

51. Kovalchuk, A. & Bondarenko, T. (2025). The role of GTF2I and NTRK3 duplications in adolescent anxiety disorders. *European Journal of Human Genetics*, 33(1), 47–59.

52. Martínez, F. et al. (2025). Adolescent stress and chromosomal instability: Insights from conflict zones. *Mutation Research - Reviews in Genetic Toxicology*, 814, 111–119.

АНОТАЦІЯ

Цитогенетичні дослідження, проведені у хворих підлітків з тривожно-фобічним та депресивним розладами, свідчили про підвищений рівень хромосомних аберацій в їх лімфоцитах крові порівняно з частотою здорових однолітків. Виявлено приховану хромосомну нестабільність у хворих з психічними розладами.

Каріотип у всіх обстежених пробандів відповідав нормальному жіночому (46,XX) або чоловічому (46,XY). Загальний рівень хромосомних аберацій в лімфоцитах крові підлітків із тривожно-фобічними розладами складав 6,5%, а у підлітків із депресивними розладами – 7,8%, що майже вдвічі перевищувало рівень хромосомних аберацій у здорових однолітків (1,9%).

Серед хромосомних порушень у підлітків із тривожно-фобічними та депресивними розладами переважали аберації хромосомного (парні ацентричні фрагменти) та хроматидного (одиначні ацентричні фрагменти) типів при порівнянні з їх частотою у здорових однолітків ($p < 0,001$).

У хворих із тривожно-фобічними розладами після впливу мутагену-провокатора мітоміцину С на лімфоцити крові *in vitro* число хромосомних аберацій становило 12,3%, що в 1,9 разів перевищувало загальний рівень аберацій хромосом до дії мутагену. У підлітків із депресивними розладами після дії мутагену-провокатора мітоміцину С на лімфоцити крові *in vitro* рівень хромосомних порушень збільшився до 13,9% за рахунок аберацій хроматидного (одиначних ацентричних фрагментів) та хромосомного (парних ацентричних фрагментів) типів.

Ключові слова: тривожно-фобічні розлади, депресивні розлади, підлітки, хромосоми, мутагенез, аберації.

SUMMARY

Cytogenetic studies conducted on adolescent patients with anxiety-phobic and depressive disorders showed an increased level of chromosomal aberrations in their blood lymphocytes compared to the frequency of healthy peers. Hidden chromosomal instability has been identified in patients with mental disorders.

The karyotype of all examined probands corresponded to normal female (46,XX) or male (46,XY). The total level of chromosomal aberrations in blood lymphocytes of adolescents with anxiety-phobic disorders was 6.5%, and in adolescents with depressive disorders – 7.8%, which was almost twice the level of chromosomal aberrations in healthy peers (1.9%).

Among chromosomal disorders in adolescents with anxiety-phobic and depressive disorders, aberrations of the chromosomal (paired acentric fragments) and chromatid (single acentric fragments) types prevailed when compared with their frequency in healthy peers ($p < 0.001$).

In patients with anxiety-phobic disorders, after exposure to the mutagen-provocateur mitomycin C on blood lymphocytes in vitro, the number of chromosomal aberrations was 12.3%, which was 1.9 times higher than the total level of chromosome aberrations before the action of the mutagen. In adolescents with depressive disorders, after exposure to the mutagen-provocateur mitomycin C on blood lymphocytes in vitro, the level of chromosomal abnormalities increased to 13.9% due to aberrations of the chromatid (single acentric fragments) and chromosomal (paired acentric fragments) types.

Keywords: anxiety-phobic disorders, depressive disorders, adolescents, chromosomes, mutagenesis, aberrations.