

Анализ аномалий кариотипа хориона при неразвивающейся беременности

Тихомирова С.В.^{1,2*}, Диунов А.Г.¹, Гурьев Д.Л.^{1,2}, Нестулей С.Ю.²

¹ — ГБОУ ВПО Ярославский государственный медицинский университет; * svetlana-yar-2010@yandex.ru

² — ГБУЗ ЯО Областной перинатальный центр

Исследование причин неразвивающейся беременности является актуальным, поскольку представляет собой серьезную проблему в акушерско-гинекологической практике. Целью исследования было сравнительное изучение частоты и спектра аномалий кариотипа хориона при неразвивающейся беременности, наступившей естественным путем. В работе представлены результаты цитогенетического исследования абортного материала от 120 пациенток с неразвивающейся беременностью. Аномальный кариотип хориона был выявлен в 74% случаев. Преобладающими типами нарушений являлись трисомии (54%) и триплоидии (12%). Проанализированы частота и спектр хромосомной патологии с учетом возраста пациенток, наличия замершей беременности в анамнезе и срока остановки развития плода. Доля аномальных кариотипов, обнаруженная в данном исследовании выше, чем в аналогичных исследованиях других авторов.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, хорион, анеуплоидия, кариотипирование, хромосомные аномалии, мозаицизм

Analysis of abnormalities of chorion karyotype in cases of non-developing pregnancy

Tikhomirova S.V.^{1,2*}, Diunov A.G.¹, Guriev D.L.^{1,2}, Nestuley S.Yu.²

¹ — Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia;

* svetlana-yar-2010@yandex.ru

² — Yaroslavl Regional Perinatal Center, Yaroslavl, Russia

The research of the reasons of non-developing pregnancy is actual as it represents a serious problem in practice of obstetrics and gynecology. The aim of the research was the comparative study of frequency and spectrum of chromosomal pathologies in patients with non-developing natural pregnancy. We present the results of cytogenetic analysis of spontaneously aborted tissues from 120 patients. Abnormal karyotype in chorion was revealed in 74% of cases. The major types of chromosomal abnormalities are trisomies in 54% of cases and triploidies in 12%. We also analyzed the frequency and spectrum of chromosomal pathologies with due regard for patients' age, fact of non-developing natural pregnancy in patients' overall history and fetal age. The rate of abnormal karyotypes in our research is higher in comparison with similar Russian and foreign studies.

Key words: non-developing pregnancy, chorion, aneuploidy, karyotyping, chromosomal abnormalities, mosaicism

Введение

Низкая рождаемость в России в последние годы усугубляется репродуктивными потерями, значительная часть которых приходится на неразвивающуюся беременность (НБ). По обобщенным данным, в сроки гестации до 10 недель в 60—70% случаев к остановке развития беременности приводят аномалии кариотипа [1—3]. Именно по этой причине цитогенетическое исследование абортного материала считается актуальным.

Целью исследования было сравнительное изучение частоты и спектра аномалий кариотипа хориона при неразвивающейся беременности, наступившей естественным путем.

Материалы и методы

Проанализирован хорион абортного материала от 120 женщин в возрасте 20 — 47 лет (средний возраст $31,7 \pm 5,7$) с подтвержденным диагнозом НБ. Срок бере-

менности и характер нарушений эмбрионального развития определялись ультразвуковыми методами. Срок остановки развития беременности варьировал от 5 до 12 недель гестации (в среднем $7,7 \pm 1,8$). Критериями для постановки диагноза НБ являлись: несоответствие размеров матки предполагаемому сроку беременности; несоответствие размеров плодного яйца ожидаемым эхо-параметрам определенного срока беременности; отсутствие сердцебиения и двигательной активности эмбриона; отсутствие сформированного эмбриона в полости плодного яйца — анэмбриония. Дополнительно оценивали уровень хорионического гонадотропина в крови, который был ниже нормативных показателей предполагаемого срока беременности. В случае диагностики замершей беременности всем пациенткам проводилась вакуум-аспирация плодного яйца. Операционный материал, представленный элементами эмбриона, хориона и децидуальных оболочек, доставлялся не позднее 1—3 часов после операции в клинко-диагностическую лабораторию перинатального центра.

Препараты метафазных хромосом получали из клеток цитотрофобласта ворсинчатого хориона, «прямым» методом по общепринятой методике [4]. По окончании гипотонической обработки клетки фиксировали смесью этилового спирта и уксусной кислоты в соотношении 3:1. Мацерацию клеток проводили в 60%-ном растворе уксусной кислоты. Хромосомы окрашивали «рутинным» методом — раствором красителя Гимза, приготовленным на фосфатном буфере. Препараты анализировали с помощью микроскопа OLYMPUS BX51, оснащенного камерой, с использованием программы ВидеоТест-Карио 3.1. Помимо определения кариотипа, учитывали частоту встречаемости спонтанных (нестабильных) хромосомных aberrаций (ХА). Регистрировали все aberrации хроматидного и хромосомного типа, учитывали образцы, где уровень митозов с дицентрическими хромосомами, однокроматидными, двухкроматидными фрагментами, разрывами хромосом составлял до 12 %. Статистическую обработку данных выполняли с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и пакета прикладных программ Statistica for Windows v.7.0, StatSoft Inc.

Результаты исследования

В ходе стандартного кариотипирования аномальный кариотип хориона был выявлен в 74% случаев замерших беременностей. Далее, на основании результатов цитогенетического исследования были сформированы две группы: группа I — 89 пациенток с выявленными аномалиями кариотипа хориона, группа II — 31 женщина с нормальным кариотипом эмбриона.

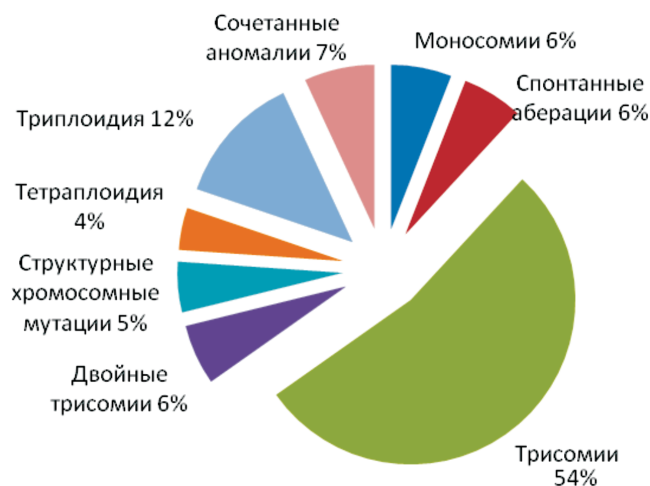
Преобладающим типом нарушения кариотипа являлись трисомии. В 54% случаях это были изолированные трисомии по разным парам хромосом всех групп. Наиболее часто встречались трисомии по группам D-17; C-12; G-14; E-9 — случаев. 6% образцов хориона были

представлены двойными трисомиями. В 18% случаев выявленные анеуплоидные нарушения являлись мозаичными. Второй по численности аномалией кариотипа в группе I была триплоидия — 12%. У трех пациенток фенотипическим проявлением триплоидии был пузырьный занос. Такой вид нарушения развития трофобласта встречался и в трех образцах euploidных кариотипов (с нормальным кариотипом), в данном случае диагностика удвоенного отцовского генома недоступна методом стандартного кариотипирования, необходимо исследование генотипа [5]. Тетраплоидные кариотипы составили 4% аномалий.

В группе I помимо геномных были выявлены и структурные мутации аутосом (5%), иногда они сочетались с анеуплоидией и были представлены маркерными хромосомами, делециями, дериватными хромосомами.

Моносомия по хромосоме X встречалась в 6%. Спонтанные (нестабильные) хромосомные aberrации отмечены также в 6% образцов хориона. Спектр хромосомных нарушений представлен на рисунке.

Полученные нами результаты — 74% аномальных кариотипов при НБ I триместра в среднем на 10—15% превышают значения аналогичных исследований других авторов [6, 7]. Возможно, это связано с тем, что наша выборка не являлась случайной. Данное исследование чаще рекомендовали возрастным женщинам, у которых уже были неразвивающиеся беременности в анамнезе. В группе I количество женщин, имевших две и более неразвивающиеся беременности, составило 36%, в группе II таких женщин было 22%. Кроме этого, 40% женщин группы I были 35 лет и старше, тогда как в группе II таких было только 12%. По средним значениям возраст пациенток был также достоверно выше в группе I относительно группы II ($32,7 \pm 5,8$ и $27,8 \pm 3,5$ соответственно, $p \leq 0,05$). Таким образом, для женщин старшей возрастной группы основной причиной привычных потерь беременности являлись хромосомные аномалии у эмбриона, подобные соответствия отмечены рядом исследований [8—10]. Достоверные положительные корреляции между возрастом женщин и наличием трисомий ($r = 0,42$, $p \leq 0,05$) также соответствуют данным других авторов [2, 4]. Достоверных отличий по возрасту отцов в сравниваемых группах мы не обнаружили. Также не было отличий между группами по усредненным срокам гестации: $7,6 \pm 1,9$ в группе I относительно $8 \pm 1,8$ в группе II. Однако сравнение распределения срока спонтанного прерывания беременности показало, что в группе II у 80% женщин остановка развития беременности соответствовала периоду 6—8 недель гестации. В группе I на данный период пришлось 62% НБ. Период, соответствующий началу формирования плаценты и активному органогенезу является критическим для эмбрионального развития человека [4], и ведущую роль в прерывании беременности могут играть такие негенетические факторы, как гормональный дисбаланс, инфекционный фактор, ан-



Частота и спектр хромосомных аномалий кариотипа хориона при неразвивающейся беременности.

тифосфолипидный синдром, повреждающее действие экзогенных агентов [5].

Одним из важнейших показателей, который отражает различия в жизнеспособности организмов разного пола в различные периоды онтогенеза, является соотношение полов (СП — отношение числа особей мужского пола к числу особей женского) СП при спонтанных абортах варьирует от 1,32 до 0,34 [3, 8]. Соотношение полов в нашем исследовании составило 0,76, при выявлении аномального кариотипа и 0,8 — в группе с нормальным кариотипом, что в целом согласуется с данными, представленными ранее [11].

Такой показатель, как частота и спектр спонтанных хромосомных aberrаций, является маркером подверженности хромосом какому-либо повреждающему фактору. В нашем исследовании данный факт подтвердился наличием положительных корреляционных связей спонтанных ХА с мозаицизмом ($r = 0,27$, $p \leq 0,05$) и с пороками, регистрируемыми на УЗИ при сроке гестации 11—12 недель (пороки сердца, аномалии нижних конечностей, деформации головы) ($r = 0,30$, $p \leq 0,05$). Это несколько случаев, когда замершую беременность установили во время скрининга I триместра.

Выводы

Таким образом, аномалиям кариотипа принадлежит доминирующее значение в этиологии неразвивающейся беременности ранних сроков. Следует также отметить, что отсутствие видимых хромосомных мутаций при стандартном кариотипировании не исключает всего спектра генетических нарушений [12, 13]. Приводимые в данной работе сравнения носят предварительный характер. Несомненно, для более обоснованных заключений, требуется проанализировать гораздо больший объем материала. Повышенная частота аномальных кариотипов хориона в большей степени характерна для женщин старшей возрастной группы с привычными потерями беременности.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Список литературы

1. Сидельникова ВМ. Привычная потеря беременности. М.: Триада-Х. 2002. 400 с.
2. Чиряева ОГ, Петрова Л И, Пендина АА, и др. Сравнительный анализ аномалий кариотипа при неразвивающейся беременности, наступившей естественным путем и с применением вспомогательных репродуктивных технологий. Журнал акушерства и женских болезней. 2012;(3):132-138.
3. Halder A., Fauzda A. Skewed sex ratio and low aneuploidy in recurrent early missed abortion. Indian J. Med Res. 2006;(124):41-50.
4. Баранов ВС, Кузнецова ТВ. Цитогенетика эмбрионального развития человека. СПб.:Изд-во Н-Л.2007.640 с.: ил.
5. Радзинский ВЕ, Димитрова ВИ, Майскова ИЮ. Неразвивающаяся беременность. М.:Гэотар-медиа.2009;200с.
6. Menasha J., Levy B., Hirschhom K. et al. Incidence and spectrum of chromosomal abnormalities in spontaneous abortions: New insights from a 12-year study. Genet. Med. 2005;(7):251-263.
7. Rolnik DH, de Carvalho MHB, et al. Cytogenetic analysis of material from spontaneous abortion. Rev. Assoc.Med. Bras. 2010; 56(6):681-683.
8. Александрова НВ, Доронина ОА, Баев ОР. Структура хромосомной патологии при неразвивающейся беременности, наступившей в ходе использования вспомогательных репродуктивных технологий. Проблемы репродукции. 2012;(2):51-56.
9. Marquard K., Westphal L., Milki A., et al. Etiology of recurrent pregnancy loss in women over the age of 35. Fertil. Steril. 2010;(94):1473-1477.
10. Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. Hum Reprod. 2002;(17):446-51.
11. Kushnir VA, Frattarelli JL. Aneuploidy in abortuses following IVF and ICSI. J. Ass Reprod Genet. 2009;(26):93-97.
12. Фетисова ИН, Добролюбов АС, Липин МА, и др. Полиморфизм генов фоллатного обмена и болезни человека. Вестник новых медицинских технологий. 2007;(1).
13. Kolte A, Nielsen H, Moltke I, et al. Genome-wide scan in affected sibling pairs with idiopathic recurrent miscarriage suggests genetic linkage. Mol. Hum. Reprod. 2011;(6):379-385.