

Неслучайное распределение кариотипов эмбрионов у женщин с привычным невынашиванием беременности

Никитина Т.В.^{1*}, Жигалина Д.И.², Саженова Е.А.¹, Толмачева Е.Н.¹, Скрябин Н.А.¹, Лебедев И.Н.¹

¹ НИИ медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

* e-mail: t.nikitina@medgenetics.ru

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) – это потеря двух и более беременностей подряд, затрагивающая до 5% супружеских пар в популяции. Средняя частота хромосомных аномалий у спонтанных абортусов человека составляет около 50%, и если считать возникновение хромосомных аномалий случайным событием, то, независимо от кариотипа первого выкидыша, последующий в половине случаев должен быть цитогенетически нормальным. Целью данной работы было определить, существует ли закономерная повторяемость хромосомной конституции у спонтанных абортусов от одной супружеской пары. Прокариотипировано 108 случаев повторной гибели эмбриона в 51 семье. Кариотип абортусов был получен с использованием комбинации нескольких методов: стандартного цитогенетического анализа, сравнительной геномной гибридизации (CGH), флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и сравнительной геномной гибридизации на микрочипах (aCGH) (73, 29, 3 и 3 образца соответственно). Среди обследованных женщин 35% (18/51) были здоровы, а 59% (30/51) имели заболевания женской половой сферы, ассоциированные с ПНБ. Отношение шансов (OR) потери второго эмбриона с таким же кариотипом (нормальным или аномальным), как и у первого абортуса, составило 6,98 (95% CI: 2,04–23,88; p = 0,0013). У 19 женщин из 51 (37%) все погибшие зародыши были с нормальным кариотипом, причем у 7 из этих женщин не было выявлено патологии, обуславливающей невынашивание беременности. Оба выкидыша с аномалиями кариотипа имели 35% (18/51) женщин, из них у 6 женщин аномалии эмбрионов представляли собой повторные трисомии по различным хромосомам (гетеротрисомии), еще в одной семье оба абортуса имели трисомию 16. Одиннадцать случаев повторной гибели эмбрионов оказались сочетанием различных типов аномалий. Средний возраст женщин с двумя трисомическими выкидышами оказался выше, чем у женщин с двумя выкидышами с различными типами аномалий ($33,1 \pm 3,45$ и $28,7 \pm 5,78$ года соответственно, $p = 0,025$). Вероятность того, что последующий абортус будет иметь такой же кариотип (нормальный или аномальный), что и предыдущий, повышена. Повторные выкидыши с нормальным кариотипом могут быть обусловлены наличием у женщин этиологических факторов невынашивания, не диагностируемых стандартными методами обследования. Некоторые пациентки с повторными трисомиями абортусов, возможно, имеют более высокий риск хромосомного нерасхождения, чем другие женщины в том же возрасте. Сочетание у абортусов от одной женщины аберраций различных типов скорее всего случайно: маловероятно, чтобы наличие конкретного типа аномалии могло быть связано с повышенным риском возникновения другого типа аномалий, так как их формирование обусловлено различными механизмами.

Ключевые слова: невынашивание беременности, абортусы, цитогенетика.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Non-random distribution of embryonic karyotypes in women with recurrent pregnancy losses

Nikitina T.V.^{1*}, Zhigalina D.I.², Sazhenova E.A.¹, Tolmacheva E.N.¹, Skryabin N.A.¹, Lebedev I.N.¹

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Tomsk

² National Research Tomsk State University, Tomsk

Introduction. Recurrent pregnancy losses is the loss of two or more consecutive pregnancies, it affects up to 5% of couples in the population. The average frequency of chromosomal abnormalities in human spontaneous abortions is about 50%, and if the chromosomal abnormalities are random events, the subsequent abortion should be cytogenetically normal in half of the cases, regardless of the karyotype of the previous miscarriage. The aim of this study was to determine is there a regular occurrence of the chromosome constitution in spontaneous abortions from the same woman. **Materials and methods.** A total of 108 cases of recurrent embryonic death in 51 families were studied. The karyotype of abortion was obtained using a combination of methods: standard cytogenetic analysis (73), CGH (29), FISH and aCGH (3 samples each). 35% (18/51) of women were healthy, 59% (30/51) had diseases associated with miscarriage. **Results.** The odds ratio (OR) of the loss of the second embryo with the same karyotype (normal or abnormal), as in the first abortion, was 6.98 (95% CI: 2.04-23.88, p = 0.0013). In 19 women from 51 (37%), all the dead embryos had normal karyotypes, and 7 of these women did not have a pathology that caused miscarriage. Among women with RM 35% (18/51) had both miscarriages with abnormal karyotypes. Of these, in 6 women, embryo anomalies were repeated trisomy of different chromosomes (heterotrisomies), in one family both abortions had trisomy 16. Eleven cases of repeated death of embryos proved to be a combination of different types of anomalies. The average age of women with two trisomic miscarriages was higher than in women with miscar-

riages with different types of anomalies (33.1 ± 3.45 and 28.7 ± 5.78 years, respectively, $p = 0.025$). **Conclusions.** The likelihood for subsequent abortion to be of the same karyotype (normal or abnormal), as the previous one, is increased. Repeated miscarriages with normal karyotypes may be due to the women's etiological factors of miscarriage that were not diagnosed by standard survey methods. Some patients with recurrent trisomic abortions may have an increased risk of chromosomal nondisjunction than other women at the same age. The combination of abortions with different types of abnormalities from one woman is most likely random: it is unlikely that the presence of a specific type of anomaly could be associated with an increased risk of another type of anomaly, because different mechanisms are involved in their formation.

Key words: recurrent pregnancy losses, spontaneous abortions, cytogenetics.

Введение

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) — потеря двух и более беременностей подряд, затрагивающая до 5% супружеских пар в популяции — является сложной проблемой как для клиницистов, так и для пациентов. Наиболее частые причины ПНБ — иммунологические, гормональные, анатомические аномалии у женщины, носительство хромосомных перестроек у супругов и аномалии кариотипа самого эмбриона. Однако около половины случаев ПНБ — идиопатические, причины которых остаются неустановленными. Роль генетических факторов при ПНБ несомненна, учитывая, что распространенность привычного выкидыша среди родственников первой степени родства выше в 2–7 раз, по сравнению с основной популяцией. Средняя частота хромосомных аномалий у спонтанных abortusов человека составляет около 50% [1], и если считать возникновение хромосомных аномалий случайным событием, то, независимо от кариотипа первого выкидыша, последующий в половине случаев должен быть цитогенетически нормальным.

Целью данной работы было определить, существует ли закономерная повторяемость хромосомной конституции (нормальной или аномальной) у спонтанных abortusов от одной супружеской пары.

Материал и методы

Объектом настоящего исследования были спонтанные abortusы, поступившие из гинекологических отделений и акушерских клиник гг. Томска и Северска, при этом врач заполнял специальную регистрационную форму с указанием возраста, акушерско-гинекологического анамнеза женщины, числа и исхода предыдущих беременностей, морфологических характеристик эмбриона. Женщине предоставлялась полная информация относительно целей и способа проведения цитогенетической диагностики причин невынашивания беременности, и она подписывала информированное согласие. Проведение исследования было одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики (г. Томск).

Исследуемая группа состояла из 51 женщины с двумя и более потерями беременности. Средний возраст женщин составил 29.7 ± 5.6 года (19–41, медиана 30 лет), а средний срок беременности 9.7 ± 2.8 недель (3,7–19,1,

медиана 9,2 недель). Среднее число беременностей на женщину составило 3.9 ± 2.0 (медиана 3), а среднее число выкидышей — 2.5 ± 1.4 (медиана 2). Акушерско-гинекологические анамнезы женщин были проанализированы на наличие предрасположенности к ПНБ (наследственная тромбофилия, антифосфолипидный синдром и другие гормональные, иммунологические и хронические воспалительные заболевания женской половой сферы, которые могли послужить этиологическими факторами повторных выкидышей). У 25 женщин в анамнезе было рождение живого ребенка (вторичное ПНБ), у 26 пациенток детей не было (первичное ПНБ).

Операционный материал, представляющий собой фрагменты плодного мешка, стерильно доставляли в лабораторию. Ткани плодного мешка отмывали от крови и отделяли от децидуальных тканей. Кариотип эмбрионов был получен с использованием комбинации нескольких методов: стандартный цитогенетический анализ (73 образца), CGH (29 образцов), FISH и aCGH (по 3 образца). Хромосомные препараты для стандартного GTG-анализа получали после культивирования экстраэмбриональных тканей в среде DMEM/F12 (1:1) с добавлением 20% эмбриональной телячьей сыворотки. Процесс культивирования, фиксации и получения хромосомных препаратов, а также методы проведения CGH, FISH и aCGH описаны в [2].

Вычисление статистической значимости различий между частотами сравниваемых показателей проводили с использованием критерия χ^2 , сравнения между группами проводили с применением непараметрического критерия Манна—Уитни. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Вычисляли отношение шансов (OR) потери второго эмбриона с таким же кариотипом (нормальным или аномальным), как и у первого abortusa. Так как в выборке были семьи, в которых про-кариотипировано 3 и 4 abortusa, то расчет (OR) проводили двумя способами: I — предыдущий abortus vs все последующие, II — оценивались все сочетания кариотипов эмбрионов.

Исследование выполнено на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, г. Томск) с использованием материалов биологической коллекции «Биобанк населения Северной Евразии».

Результаты

Всего было прокариотипировано 108 случаев повторной гибели эмбриона в 51 семье: у 46 женщин был получен анализ кариотипа двух abortusов, у 4 женщин — 3 abortusов, и у одной женщины проанализировано 4 погибших эмбриона. В соответствии с кариотипом эмбрионы относили к группе «нормальный кариотип» (46,XX или 46,XY) или к группе «аномальный кариотип» (все типы хромосомных аномалий). Женщин подразделяли на 4 группы: А — оба эмбриона с аномалиями кариотипа; В — 1-й (предыдущий) abortus с нормальным, 2-й (последующий) с аномальным кариотипом; С — 1-й abortus с аномальным, 2-й с нормальным кариотипом; D — оба abortusa с нормальным кариотипом (табл. 1). После гибели эмбриона с аномальным кариотипом следующий abortus гораздо чаще был также с аномальным, чем с нормальным кариотипом (72% и 28% соответственно). Если предыдущий abortus имел нормальный кариотип, последующий также в большинстве случаев (73,1%) был нормальным, а аномальный кариотип встречался в 26,9% случаев (табл. 1).

Отношение шансов (OR) потери второго эмбриона с таким же кариотипом (нормальным или аномальным), как и у первого abortusa, по I способу составило OR = 6,98 (95% CI: 2,04–23,88; p = 0,0013), по II способу OR = 7,84 (95% CI: 2,48–24,80; p = 0,0002). Таким образом, обнаружена повышенная вероятность того, что последующий abortus будет иметь такой же кариотип (либо нормальный, либо аномальный), что и предыдущий.

У 37% (19/51) женщин все погибшие зародыши были с нормальным кариотипом, из них у 7 пациенток имелаась патология репродуктивной системы, однако

у 10 женщин не было выявлено патологии, обуславливающей невынашивание беременности, включая одну женщину с тремя, и одну — с четырьмя abortusами с нормальным кариотипом (табл. 2). Кроме того, среди пациенток из этой группы было больше случаев первичного ПНБ, при котором у женщины не было беременностей, завершившихся рождением живого ребенка (табл. 2).

Оба выкидыша с аномалиями кариотипа имели 35% (18/51) женщин с ПНБ, из них у 6 женщин аномалии эмбрионов представляли собой повторные трисомии по различным хромосомам (гетеротрисомии), еще в одной семье оба abortusa имели трисомию хромосомы 16. Одиннадцать случаев повторной гибели эмбрионов с аномальным кариотипом оказались сочетанием различных типов аномалий: трисомии с триплоидией (4 семьи), трисомии с тетраплоидией (4 семьи), трисомии с моносомией X (2 семьи) и мозаичной моносомии аутосом с тетраплоидией (1 семья). В группе А средний возраст женщин с двумя трисомными выкидышами был достоверно выше, чем у женщин с двумя выкидышами с различными типами аномалий ($33,1 \pm 3,45$ и $28,7 \pm 5,78$ соответственно, $p = 0,025$).

По данным гинекологического обследования, 35% (18/51) женщин были здоровы, 59% (30/51) имели гормональные, иммунологические или воспалительные заболевания женской половой сферы, ассоциированные с невынашиванием (материнский фактор), и для 6% (3/51) данные отсутствовали. Интересно, что по наличию материнского фактора, предрасполагающего к невынашиванию беременности, статистически значимых отличий между группами не было (табл. 2). Следует отметить, что повторные хромосомные аномалии эмбрионов и наличие

Сочетания кариотипов abortusов у женщин с ПНБ

Таблица 1

1-й abortus	2-й abortus	Группа	Число женщин (%)	Возраст женщин	Число эмбрионов
Аномальный	Аномальный	A	18 (72,0)	$30,4 \pm 5,4$	36
	Нормальный	C	7 (28,0)	$30,7 \pm 5,1$	15
Нормальный	Аномальный	B	7 (26,9)	$33,1 \pm 6,2$	16
	Нормальный	D	19 (73,1)	$27,5 \pm 5,3^*$	39

Примечание. * — статистически значимые отличия по возрасту от групп А и В

Сравнительная характеристика групп женщин по анамнестическим показателям

Таблица 2

Группы	ПНБ: первичное/вторичное	Число беременностей	Число выкидышей	Материнский фактор: есть/нет
A	9/9	$3,5 \pm 1,9$	$2,1 \pm 1,4^{**}$	5/12
B+C	4/10	$5,1 \pm 2,2$	$2,9 \pm 1,6$	6/8
D	13/6*	$3,3 \pm 1,5$	$2,5 \pm 1,0$	7/10

Примечание. Жирным шрифтом выделены достоверные отличия; * — статистически значимые отличия по наличию живорожденных детей от группы B+C; ** — статистически значимые отличия по числу выкидышей от группы B+C.

у женщины этиологических факторов привычного невынашивания не являются взаимоисключающими, их сочетание встретилось довольно часто. В группе А пять из 17 женщин имели такую патологию, в том числе и женщина с наследственной тромбофилией и 8 спонтанными abortами в анамнезе, у которой оба прокариотипированных эмбриона имели аутосомные трисомии.

Так как группы В и С представляли собой женщин, у эмбрионов которых сочетались нормальные и аномальные кариотипы, и по всем характеристикам эти группы не различались, мы объединили их в единую группу (В+С). Оказалось, что женщины из этой группы имели большее число беременностей и большее число выкидышей, чем остальные (табл. 2). При этом и число живорожденных детей в этой группе было несколько выше, но уровня статистической значимости выявленные отличия достигали только по сравнению с группой D.

Обсуждение

ПНБ затрагивает до 5% супружеских пар в популяции, при этом примерно у половины из них причина повторных случаев эмбриональной гибели остается невыявленной. Известно, что хромосомная патология обуславливает 50–60% случаев спонтанных abortов у человека [3]. Это означает, что при случайном повторении событий невынашивания беременности, независимо от кариотипа первого выкидыша, второй должен быть цитогенетически нормальным в половине случаев. Однако полученные в настоящей работе данные допускают существование неслучайного распределения кариотипов abortусов, во всяком случае, у части женщин: если предыдущий эмбрион имел нормальный кариотип, то вероятность последующей потери эмбриона с нормальным кариотипом составляла 73%. Если же предыдущая потеря беременности была вызвана хромосомными аномалиями зародыша, то вероятность того, что следующий abortus будет цитогенетически нормальным, составила лишь 28% (табл. 1). Сходное распределение наблюдалось и для abortусов с хромосомными аномалиями: кариотип второго из двух последовательных спонтанных abortусов был аномальным в 72% случаев, если предыдущий зародыш был анеуплоидным, и только в 27% случаев, если предыдущий abortus имел нормальный кариотип. Отношение шансов потери второго эмбриона с таким же (нормальным или аномальным) кариотипом, как и у первого abortusa, составило OR = 6,98 (или OR = 7,84 в зависимости от способа расчета). Таким образом, обнаружена повышенная вероятность того, что последующий abortus будет иметь такой же кариотип, что и предыдущий. Сходные наблюдения описаны в работе Хассольда: если предыдущий зародыш был анеуплоидным, то кариотип второго abortusa был аномальным приблизительно в 70% случаев, а если предыдущий abortus имел нормальный кариотип — то только в 20% случаев [4]. Это позволяет предположить, что у части су-

ружеских пар имеет место повторяемость хромосомной конституции погибших эмбрионов. По-видимому, повторная гибель эмбрионов с нормальным кариотипом и повторные потери беременности вследствие хромосомных аномалий зародышей представляют собой два различных состояния, обусловленных разными механизмами формирования.

Повторная гибель эмбрионов с нормальным кариотипом

При кариотипировании двух или более последовательных abortусов от 273 женщин было установлено, что нормальный хромосомный статус погибшего эмбриона значительно повышает вероятность того, что последующий abortus также будет иметь нормальный кариотип [5]. В ряде других работ также отмечается, что если первый обследованный abortus имел нормальный кариотип, то и последующие abortусы в этих семьях также имели нормальный хромосомный набор [4]. Вероятно, что в семьях с ПНБ и цитогенетически нормальными abortусами действует некий постоянный неблагоприятный фактор, не всегда диагностируемый стандартными методами акушерско-гинекологического обследования, который распространяется на все беременности, и ведет к повторным потерям эмбрионов с нормальным хромосомным набором.

В нашем исследовании 13 из 19 женщин в этой группе (D) не имели ни одной благополучно завершившейся беременности (первичное ПНБ), что больше, чем в других группах (табл. 2). Возраст женщин с повторными потерями эмбрионов с нормальными кариотипами оказался статистически значимо ниже ($27,5 \pm 5,3$ года) по сравнению с женщинами из других групп (табл. 1). Известно, что с увеличением возраста женщин повышается частота хромосомных аномалий у эмбрионов. Более частая гибель эмбрионов с нормальным кариотипом у молодых женщин согласуется с этим фактом, а наличие повторных выкидышей свидетельствуют о существовании неустановленной патологии у данной супружеской пары.

Таким образом, женщины с abortусами с нормальным кариотипом имеют меньше живорожденных детей, ПНБ у них формируется в более молодом возрасте, чем у женщин других групп, а причины гибели эмбрионов для большинства из них остаются не выявленными. По данным Стеффенсон с соавторами, у женщин с ПНБ нормальный кариотип предыдущего abortusa связан с неблагоприятным прогнозом в последующей беременности [6]. В исследовании на японской популяции установлено, что у пациенток с кариотипически нормальным abortусом следующая беременность закончилась невынашиванием в 62% случаев, тогда как у пациенток с аномальным кариотипом плода abort произошел лишь у 38% женщин ($p = 0,01$) [7]. Все это позволяет заключить, что наличие повторных выкидышей с нормальным кариотипом является наименее благоприятным вариантом с точки зрения прогноза исхода последующей беременности.

Повторные потери беременности вследствие хромосомных аномалий зародышей

Проведенный в настоящей работе анализ выявил довольно высокую вероятность того, что обе потери беременности у женщины вызваны аномалиями кариотипа эмбриона — 35% (18/51). Исследования, где анализировали кариотипы нескольких abortусов от одной и той же пациентки, немногочисленны. Самое масштабное из них, проведенное на двух выборках женщин — в Нью-Йорке и Гонолулу — было опубликовано в 1987 году [5]. Частота повторной потери анеуплоидных эмбрионов в Нью-Йорке составила 19,2% (24/125), а в Гонолулу 27,7% (41/148). По данным других исследователей частота повторных хромосомных аномалий еще ниже: в штате Юта (США) она была равна 10% (3/30) [8] и в Польше — 13% (3/23) [9]. Обнаруженная в нашей популяции частота статистически значимо выше, чем в других выборках, кроме сравнения с популяцией Гонолулу. Так как общая частота хромосомных аномалий у спонтанных abortусов в Томской популяции составляет 46,6% при ПНБ и 56,7% при спорадических abortусах [10] и не превышает средних мировых значений этого показателя [3], повышенная частота повторной гибели эмбрионов с аномалиями кариотипа не могла быть вызвана более частой их встречаемостью в целом. Популяционная специфичность хоть и не может быть исключена, но ее вероятность невелика, учитывая тот факт, что частоты спонтанных abortусов и частоты хромосомных аномалий среди них довольно сходны в различных изученных популяциях [1, 3]. Более вероятным представляется, что у некоторых женщин имеются факторы, предрасполагающие к формированию эмбрионов с нарушениями кариотипа.

В литературе описано несколько случаев, когда супружеская пара имела три и более abortуса с аномалиями кариотипа, чаще всего это были трисомии по различным хромосомам, хотя встречались и полиплоидии. Специальное исследование семей, имеющих нескольких abortусов с аномалиями кариотипа, было предпринято Робинсон с соавторами. Оказалось, что типы аномалий хромосом сходны с аномалиями у спорадических abortусов, почти все трисомии возникали в результате ошибок в мейозе матери, не было выявлено увеличения повторяемости одной и той же аномалии в семье по сравнению с ожидаемой при случайном совпадении. Так как средний возраст матерей в выборке равнялся 38 годам, авторы сделали вывод, что основной предрасполагающий фактор повторных случаев анеуплоидии у abortусов — это увеличение частоты случайных ошибок сегрегации хромосом вследствие большого возраста матерей [11]. Однако в нашем исследовании средний возраст матерей с повторяющимися аномальными кариотипами abortусов был заметно ниже (30 лет). Интересно, что внутри этой группы средний возраст женщин с двумя трисомиями выкидышами оказался статистически значимо выше, чем у женщин с двумя выкидышами с различными типами аномалий ($33,1 \pm 3,45$ и $28,7 \pm 5,78$ соответственно, $p = 0,025$).

Случаи повторения триплоидий среди abortусов от одной женщины также встречаются, хотя и гораздо реже [12]. Филджес с соавторами описали женщину 34 лет с 18 abortами, шесть из которых были проанализированы и все оказались триплоидными, причем механизм возникновения триплоидии — неспособность корректно завершить II деление мейоза. Интересно, что и мать пациентки также имела ПНБ с 18 спонтанными abortами в анамнезе. В этом и подобных случаях существование генетических особенностей, предрасполагающих к формированию аномалий кариотипа у эмбриона, не вызывает сомнения, но такие пациенты весьма редки.

Повторные случаи хромосомных аномалий abortусов могут быть следствием нескольких причин.

1. Случайное повторение в результате повышения риска хромосомного нерасхождения с увеличением возраста матери. Эта точка зрения основывается на анализе значительной по размеру выборки (273 женщины с двумя прокариотипированными abortусами), в котором не было обнаружено повышенного риска трисомии у эмбриона, если предыдущий abortus был трисомным либо имел другую хромосомную аномалию. Это позволило авторам сделать вывод о том, что повторные анеуплоидии вносят вклад в повторное невынашивание лишь у незначительной части пациентов [5].

2. Гонадный мозаицизм у родителей. Наличие анеуплоидного клона в гонадах может приводить к неоднократному появлению зародышей с одинаковыми аномалиями. Но так как зарегистрированные редкие случаи повторных трисомий с участием одной и той же хромосомы (гомотрисомии) включают хромосомы 15, 16 и 22 — одни из самых часто встречающихся аномалий у спонтанных abortусов [13], нельзя исключить возможность случайного совпадения. Специальное исследование позволило сделать вывод о том, что случаи гонадного мозаицизма, если и имеют место, то очень редки, и не вносят значимого вклада в этиологию ПНБ [11].

3. Повышенный по сравнению со среднестатистическим для данного возраста риск мейотического нерасхождения у некоторых женщин. Это может быть обусловлено, например, генетической вариабельностью частоты мейотической рекомбинации, мутациями в генах, контролирующих процесс мейоза, процессами биологического старения яичников, которые могут варьировать у женщин одного биологического возраста. Поиск связи определенных генетических вариантов у родителей с нарушениями кариотипа эмбрионов проводится весьма активно. Например, было обнаружено, что генотипы гена *MTHFR* — важного фермента метаболизма фолиевой кислоты, влияют на продукцию анеуплоидных эмбрионов. Значимо более высокая частота анеуплоидных эмбрионов (70,3%) выявлена у матерей-носительниц минорных аллелей полиморфных вариантов *MTHFR* 677T и/или *MTHFR* 1298C, по сравнению с носительницами частых аллелей (57,9%) [14]. Пока неясно, каков может быть механизм этого явления, возможно, аномалии ме-

таболизма фолатов ведут к аберрантному метилированию ДНК и повышению вероятности анеуплоидии. Мутации в гене *SYCP3* (Sinaptonemal complex protein 3), белок которого является существенным компонентом синаптонемального комплекса, обнаружены у женщин с ПНБ [15]. Однако масштабное полногеномное ассоциативное исследование, включающее 2362 матерей, 2360 отцов, 20798 бластомеров и 15388 биопсий трофоэктодермы, проведенное специально для поиска генетических вариантов у родителей, связанных с нарушениями кариотипа у эмбрионов, не выявило ассоциаций частоты нерасхождения хромосом в оогенезе с генотипом матери [16].

4. Повышенный риск соматического нерасхождения в раннем эмбриогенезе. Для раннего эмбрионального развития человека характерна высокая частота хромосомного мозаичизма, в том числе и у морфологически нормальных эмбрионов. Применение FISH выявило, что мозаичные варианты хромосомных аномалий, возникшие уже в процессе эмбрионального развития, широко распространены и в материале спонтанных abortusов. Косвенные аргументы в пользу того, что существует межиндивидуальная вариабельность по частоте соматического нерасхождения у потомков, получены в исследовании Дельханти. Обнаружено, что некоторые пациентки продуцировали «хаотических» эмбрионов повторно в нескольких циклах ЭКО, тогда как у других пациенток такие эмбрионы не встречались вообще [17]. В исследовании на ооцитах показано неслучайное распределение хромосомных аномалий в ооцитах некоторых женщин, что свидетельствует о существовании предрасположенности к нерасхождению. ДНК более 20 тысяч эмбрионов (3- и 5-дневных) и более 2 тысяч их родителей генотипировали с использованием SNP-чипов (single nucleotide polymorphism), в результате чего была обнаружена ассоциация нарушений кариотипа эмбриона, возникших в первых митотических делениях, с распространенным вариантом (AA) rs2305957 гена *PLK4* (*Polo-like kinase 4*) [16]. Продукт этого гена играет роль в удвоении центриолей, и как избыток, так и недостаток его приводят к индукции хромосомной нестабильности. Совсем недавно опубликованы данные, полученные в Китае при обследовании 530 женщин с ПНБ и более 2 тысяч женщин с бесплодием, подвергшихся процедуре ЭКО. Было показано, что женщины с генотипом AA по данному полиморфному варианту (rs2305957) из группы с бесплодием имеют сниженный показатель частоты формирования бластоцист, а в группе с ПНБ носительство данного варианта оказалось связано с невынашиванием беременности [18].

Так как выборки женщин с несколькими прокариотипированными abortusами ограничены вследствие сложности сбора материала, риск нерасхождения хромосом у зародышей оценивали также по данным пренатальных и преимплантационных исследований. Масштабный анализ 2856 кариотипов, полученных при пре-

натальной диагностике у женщин, имевших ранее трисадную беременность или спонтанный abortus с трисомией, продемонстрировал существование повышенного риска гетеротрисомии (т.е. трисомии по другой хромосоме) в последующей беременности [19]. Результаты еще ряда исследований, проведенных в различных популяциях, демонстрируют сходные закономерности: у женщин, имевших ранее анеуплоидию у зародыша, обнаружена повышенная вероятность анеуплоидии при следующем зачатии, особенно это характерно для молодых (<35 лет) пациенток [20]. Эти работы свидетельствуют в пользу гипотезы, что у некоторых женщин аномальные кариотипы зародышей формируются чаще, чем если бы это было случайным событием.

Таким образом, повышенная частота повторных abortusов с аномалиями кариотипа, обнаруженная в данной работе, может быть связана с индивидуальными особенностями некоторых женщин, предрасполагающими к хромосомным аномалиям у зародышей. Пока неясен механизм такой предрасположенности, особенно если у эмбрионов встречаются аберрации различных типов. Маловероятно, чтобы наличие конкретного типа аномалии могло быть связано с повышенным риском возникновения другого типа аномалий, так как в их формирование вовлечены различные механизмы (нерасхождение при трисомии, анафазное отставание при моносомии X, диспермия или нарушения мейоза при триплоидии и сбой митоза при тетраплоидии), и такие сочетания скорее всего случаи. Однако у женщин с однотипными повторными аномалиями кариотипа abortusов представляется интересным проанализировать генетические и эпигенетические особенности с использованием современных методов — анализа метилирования, вариаций числа копий ДНК (CNV), однокулонеидных полиморфизмов (SNP) и секвенирования следующего поколения для поиска точковых мутаций.

Список литературы

1. Никитина ТВ, Лебедев ИН. Цитогенетика привычного невынашивания беременности. Генетика. 2014;50(5): 501-514.
2. Лебедев ИН, Никитина ТВ. Цитогенетика нарушений эмбрионального развития человека (Наследственность и здоровье): учебно-методическое пособие — Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2013. — 124 с.
3. van den Berg MM, van Maarle MC, van Wely M, et al. Genetics of early miscarriage. Biochim Biophys Acta. 2012;1822:1951-1959.
4. Hassold T.J. A cytogenetic study of repeated spontaneous abortions. Am. J. Hum. Genet. 1980;32:723 -730.
5. Warburton D, Kline J, Stein Z, et al. Does the karyotype of a spontaneous abortion predict the karyotype of a subsequent abortion? — Evidence from 273 women with two karyotyped spontaneous abortions. Am. J. Hum. Genet. 1987;41:465-483.
6. Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. Hum. Reprod. 2002;17: 446-451.

7. Ogasawara M, Aoki K, Okada S, Suzomori K. Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil. Steril.* 2000;73:300-304.
8. Sullivan AE, Silver RM, LaCoursiere DY, et al. Recurrent fetal aneuploidy and recurrent miscarriage. *Obstet. Gynecol.* 2004;104:784-788.
9. Skrzypczak J, Kwinecka-Dmitriew B, Zakrzewska M, Latoś-Bielenska A. Do chromosomal abnormalities reappear in subsequent pregnancies and how often? *Ginekol Pol.* 2010;81(9):681-686.
10. Nikitina TV, Sazhenova EA, Tolmacheva EN, et al. Comparative cytogenetic analysis of spontaneous abortions in recurrent and sporadic pregnancy losses. *Biomed Hub.* 2016.1.:446099 (DOI: 10.1159/000446099)
11. Robinson W, McFadden DE, Stephenson MD. The origin of abnormalities in recurrent aneuploidy/polyplodiy. *Am. J. Hum. Genet.* 2001;69:1245-1254.
12. Filges I, Manokhina I, Penaherrera MS, et al. Recurrent triploidy due to a failure to complete maternal meiosis II: whole exome sequencing reveals candidate variants. *Molecular Human Reproduction.* 2015;21(4):339-346.
13. Lebedev I. Mosaic aneuploidy in early fetal losses. *Cytogenet Genome Res.* 2011;133:169-183.
14. Enciso M, Sarasa J, Xanthopoulou L, et al. Polymorphisms in the MTHFR gene influence embryo viability and the incidence of aneuploidy. *Hum Genet.* 2016;135:555-568.
15. Sazegary A, Kalantar SM, Pashaiefar H, et al. The T657C polymorphism on the SYCP3 gene is associated with recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet.* 2014 Oct;31(10):1377-1381.
16. McCoy RC, Demko Z, Ryan A, et al. Common variants spanning PLK4 are associated with mitotic-origin aneuploidy in human embryos. *Human genetics.* 2015;348(6231):235-238.
17. Delhanty JD, Harper JC, Ao A, et al. Multicolour FISH detects frequent chromosomal mosaicism and chaotic division in normal preimplantation embryos from fertile patients. *Hum Genet.* 1997;99(6):755-760.
18. Zhang Q, Li G, Zhang L, Sun X, et al. Maternal common variant rs2305957 spanning PLK4 is associated with blastocyst formation and early recurrent miscarriage. *Fertil. Steril.* 2017 Apr;107(4):1034-1040.e5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.01.006.
19. Warburton D, Dallaire L, Thangavelu M, et al. Trisomy recurrence: a reconsideration based on North American data. *Am. J. Hum. Genet.* 2004;75:376-385.
20. de Souza E, Halliday J, Chan A, et al. Recurrence risks for trisomies 13, 18, and 21. *Am J Med Genet A* 2009;149A: 2716-2722.