

© О. Г. Чиряева, Л. И. Петрова,  
Н. А. Садик, В. С. Дудкина,  
А. А. Пендина, И. Д. Федорова,  
Т. В. Кузнецова, В. С. Баранов

НИИ акушерства и гинекологии  
им. Д. О. Отта РАМН,  
Санкт-Петербург

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ХОРИОНА ПРИ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

■ В настоящей работе суммированы результаты цитогенетической диагностики материала, полученного после прерывания неразвивающейся беременности. С учетом возраста матери и срока беременности проанализированы частота и спектр хромосомной патологии в 200 случаях. Проведены сопоставления полученных результатов с аналогичными отечественными и зарубежными данными.

■ **Ключевые слова:** неразвивающаяся беременность; кариотипирование; хромосомные и геномные мутации

### Введение

Невынашивание беременности представляет собой серьезную проблему в акушерско-гинекологической практике. Показано, что 12–15 % всех клинически установленных беременностей завершаются самопроизвольным выкидышем. С учетом остановки развития на ранних стадиях их доля возрастает до 17–22 % [13, 24].

Неоспоримыми факторами риска невынашивания беременности являются носительство родителями сбалансированных хромосомных мутаций и анатомические пороки матки. К факторам риска относят также возраст и некоторые соматические заболевания матери, гормональные нарушения, факторы с эмбриотоксическим и тератогенным эффектом (инфекции, лекарственные и наркотические препараты) [10, 34].

Благодаря многочисленным цитогенетическим исследованиям abortного материала в отечественных и зарубежных популяциях было установлено, что одной из ведущих причин эмбриональной гибели являются аномалии кариотипа [3, 9, 18, 22, 29, 30]. По обобщенным данным частота хромосомных аномалий у самопроизвольных выкидышей до 10-й недели составляет 65–70 % [16], а до 12-й недели — 35–45 % [4, 17]. Такие исследования продолжают привлекать внимание в связи с их диагностической и прогностической значимостью [11, 19, 31, 32, 37].

Цитогенетический анализ материала, полученного в результате прерывания беременности по медицинским показаниям, является одним из направлений работы цитогенетической группы лаборатории пренатальной диагностики врожденных и наследственных заболеваний человека. В настоящей работе обобщены результаты кариотипирования 200 образцов хориона и плаценты, полученных после прерывания неразвивающейся беременности.

### Материал и методы

В период с мая 1997 года по январь 2007 года из различных акушерско-гинекологических стационаров Санкт-Петербурга в лабораторию поступили образцы abortного материала от 232 женщин с диагнозами «анэмбриония» (11 случаев) и «неразвивающаяся беременность» (221 случай). Срок беременности и характер нарушений эмбрионального развития определялись ультразвуковыми методами специалистами лечебно-профилактических учреждений.

Операционный материал был представлен фрагментами плодного мешка, хориона и децидуальных оболочек, доставленных в течение 2–4 часов после операции в физиологическом растворе (228 образцов). Четыре образца, доставленные с нарушениями методических требований (2 — в сухом стерильном флаконе и 2 — в других средах), оказались непригодными для цитогенетического анализа. Сопроводительные

документы в 221 случае содержали информацию о возрасте матери, сроке беременности, характере нарушения развития, а в 11 случаях информация была неясной или неполной.

Препараты метафазных хромосом получали из клеток цитотрофобласта ворсинчатого хориона ускоренным «прямым» методом [12]. Окрасивание хромосом проводили с использованием флуорохрома Hoechst 33258 с контрастированием актиномицином D в соответствии с методами, описанными нами ранее [12]. Препараты анализировали с помощью микроскопа *LEICA DM LS*, оснащенного цветной камерой Leica DFC 320.

При кариотипировании руководствовались правилами, рекомендованными для цитогенетических исследований в учреждениях медико-генетической службы [8].

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистического пакета программ GraphPad Prizm 4. Для оценки соотношения полов использовали критерий  $\chi^2$ . Для анализа характера взаимосвязи возраста матери, срока беременности и числа замерших беременностей использовали регрессионный анализ и коэффициент корреляции Спирмена. Средней считали корреляцию при  $0,3 > r > 0,6$ , слабой — при  $0 > r > 0,3$ .

## Результаты

Стандартное кариотипирование проведено в 211 случаях из 218. В 7 случаях анализ оказал-

ся невозможным в связи с количественными и/или качественными характеристиками препаратов, не соответствующими стандартам [8]. Следовательно, эффективность цитогенетического анализа в нашем исследовании составила 96,8 % (табл. 1).

Из дальнейшего анализа были исключены 11 случаев с неясными или неполными данными направления (табл. 1).

Структура исследованной выборки ( $n = 200$ ) с учетом возраста матери и срока беременности представлена в таблице 2. Возраст женщин варьировал от 20 до 47 лет (средний —  $32,7 \pm 6,15$ ), 74 % случаев практически равномерно распределились по группам 25–29, 30–34 и 35–39 лет. Срок беременности варьировал от 3,5 до 20 недель (средний —  $7,6 \pm 2,29$ ). Из 200 проанализированных случаев 196 были представлены абортами первого триместра и только 4 случая — второго. Большинство замерших беременностей (70,5 %) приходилось на срок 6–10 недель (табл. 2).

Нормальный кариотип был выявлен в 72 случаях (36 %), аномалии кариотипа — в 128 случаях (64 %). Суммарные результаты кариотипирования представлены в таблице 3.

Преобладающим типом нарушения кариотипа оказалась трисомия (71 случай простых и 10 случаев множественных трисомий) (рис. 1). Чаще других в простые трисомии вовлекались хромосомы 22 и 16 (по 18 случаев), значительно реже —

Таблица 1

### Характеристика abortного материала, поступившего для анализа

Материал для исследования (число образцов)	Всего	В том числе			
		не содержащие ворсины цитотрофобласта хориона	с нарушением условий транспортировки	с отсутствием митотической активности	с неполными анамнестическими данными
Поступило	232	10	4	7	11
Кариотипировано	211	0	0	0	11

Таблица 2

### Возраст матери в группах замерших беременностей разных сроков

Возраст матери (лет)	Срок беременности, недели				Всего
	$\leq 5,5$	6–10	10,5–13,0	$\geq 13,5$	
$\leq 24$	1	14	4	–	19
25–29	9	34	5	3	51
30–34	14	29	4	1	48
35–39	4	38	7	–	49
$\geq 40$	6	26	1	–	33
Всего	34	141	21	4	200

Таблица 3

## Суммарные результаты цитогенетического анализа

Характеристика кариотипа		Число случаев/ частота, % n = 200	Срок беременности, недель	Средний возраст матери M ± m, лет	
Нормальный (n = 72)	46,XX	34/17	4,5–20,0	33,9 ± 5,75	32,64 ± 6,10
	46,XY	38/19	5–12	31,8 ± 6,13	
Трисомии (n = 71)	трисомия 1	—	—	—	34,01 ± 6,37
	трисомия 2	2/1	5,0–8,5	25,5 ± 2,12	
	трисомия 3 <sup>д</sup>	1/0,5	12	23	
	трисомия 4	—	—	—	
	трисомия 5	1/0,5	5,5	34	
	трисомия 6	4/2	4,5–6,5	35,8 ± 8,96	
	трисомия 7	1/0,5	12	29	
	трисомия 8	1/0,5	6,5	41	
	трисомия 9	2/1	5,0–5,5	29,5 ± 4,95	
	трисомия 10 <sup>г</sup>	—	—	—	
	трисомия 11	1/0,5	6,5	40	
	трисомия 12	1/0,5	40 6	40	
	трисомия 13 <sup>а</sup>	1/0,5	8,5	30	
	трисомия 14	1/0,5	7,5	37	
	трисомия 15	6/3	7–9	38,8 ± 3,43	
	трисомия 16 <sup>б</sup>	18/9	5–10,5	32,1 ± 5,98	
	трисомия 17	2/1	5,5–6	26	
	трисомия 18	2/1	7,5–12,5	36 ± 1,41	
	трисомия 19	—	—	—	
	трисомия 20	2/1	7,5–8,0	36 ± 2,83	
трисомия 21 <sup>б</sup>	7/3,5	7,0–12,5	32 ± 7,99		
трисомия 22 <sup>е</sup>	18/9	5,5–12,0	36,8 ± 4,51		
Множественные трисомии (n = 10)		10/5	4,5–8,0	33,2 ± 7,82	
Моносомии (n = 11)	моносомия X	10/5	7–11	34,9 ± 6,08	34,18 ± 6,24
	моносомия 21	1/0,5	9	27	
Полипloidии (n = 24)	триплоидия	13/6,5	3,5–14,0	29,8 ± 5,37	29,79 ± 4,81
	гипертриплоидия	3/1,5	6,5–9,5	28,3 ± 4,04	
	тетраплоидия	6/3	6–8	30,7 ± 4,68	
	гипертетраплоидия	2/1	5–6	32,5 ± 0,7	
Сочетанные (n = 4)	сочетанные структурные перестройки и геномные мутации	4/2	5–8	26,5 ± 3,87	26,5 ± 3,87
Структурные (n = 8)	структурные перестройки	4/2	7,5–14,5	27,3 ± 1,7	30,0 ± 4,04
	с маркерными хромосомами	4/2	5,5–8,0	32,8 ± 3,86	
Итого (n = 200)		200/100			32,7 ± 6,15
<p>а — транслокационная форма трисомии 13 (46,XY,+13,der(13;14)(q10;q10)mat);  б — включая транслокационную форму трисомии 21 (46,XX,der(21;21)(q10;q10),+21 <i>de novo</i>);  в — включая случай 46,XY,der(13;22)(q10;q10)pat,+16;  г — в группе мозаичных двойных трисомий (№ 7 и № 9, табл. 4);  д — включая один случай — 47,XY,+3/46,XY;  е — включая один случай — 47,XX,+22/46,XX</p>					

Таблица 4

## Случаи двойных и тройных трисомий, выявленные в цитотрофобласте хориона

№	Кариотип	Число случаев (n)	Возраст пациентки, лет	Срок беременности, недель
Множественные трисомии				
1	49,XX,+7,+15,+16	1	45	5,5
2	48,XX,+15,+21	1	41	5
3	48,XY,+13,+14	1	36	4,5
4	48,XX,+18,+20	1	42	7
5	48,XY,+2,+7	1	29	6,5
6	48,XY,+22	1	25	6,5
Мозаичные варианты				
7	48,XY,+10,+13[2]/47,XY,+10[27]	1	31	7
8	48,XY,+3,+21[4]/47,XY,+3[7]	1	25	4,5
9	48,XY,+8,+10[6]/46,XY[9]	1	23	8
10	48,XXX,+15[8]/47,XY,+15[7]	1	35	8
Итого		10	23–45	4,5–8,0

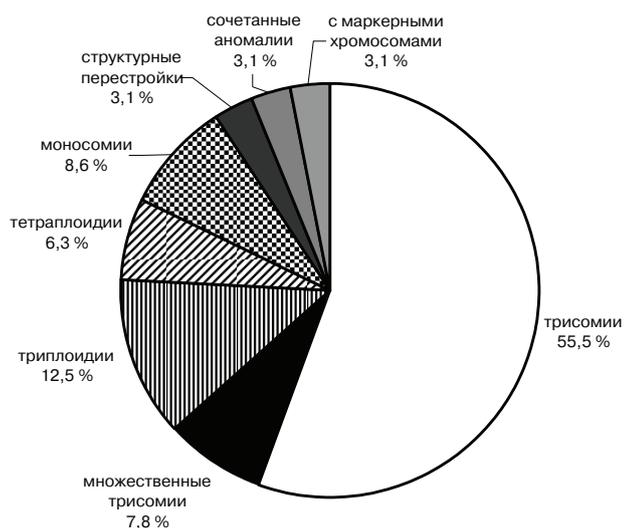


Рис. 1. Спектр аномалий кариотипа в материале 128 замерших беременностей (n = 128)

хромосомы 21 и 15 (7 и 6 случаев соответственно) (табл. 3). Не было зарегистрировано ни одного случая трисомии 1, 4 и 19 (табл. 3). Трисомия 10 (два случая) была представлена только в мозаичной форме в группе кариотипов с множественными трисомиями (табл. 4). Следует отметить, что мозаичные формы простых трисомий были выявлены только по двум хромосомам — 3 и 22 (табл. 3). В 10 случаях отмечены полные и мозаичные формы множественных трисомий с участием двух и трех дополнительных хромосом в кариотипе (табл. 4).

В 3 случаях были выявлены транслокационные формы трисомий, обусловленные робертсоновскими транслокациями (табл. 3). В одном из них — единственном в нашей выборке случае трисомии 13 — aberrantная хромосома *der(13;14)* была

унаследована от матери. Во втором случае центрическое слияние хромосом 21 — *der(21;21)* — возникло *de novo*. В третьем — обнаружено сочетание моносомии X и двойной трисомии 13 и 15, обусловленной робертсоновской транслокацией *der(13;15)*, происхождение которой пока не установлено (группа сочетанных мутаций, табл. 3 и табл. 5). В одном случае трисомия 16 (табл. 3) сочеталась с робертсоновской транслокацией *der(13;22)*, унаследованной от отца.

Второй по численности аномалией кариотипа оказалась полиплоидия (24 случая) (табл. 3), представленная триплоидией и гипертриплоидией (13 и 3 случая соответственно), тетраплоидией и гипертетраплоидией (6 и 2 случая соответственно) (табл. 6).

Моносомии (рис. 1) были представлены моносомией X (10 случаев) и моносомией 21 (1 случай) (табл. 6).

Хромосомные мутации (табл. 5) представляли собой несбалансированные перестройки аутосом (№ 1–8), из которых в 4 образцах они сочетались с геномными мутациями (№ 5–8), а также маркерными хромосомами (№ 9–12). В 5 из 12 случаев структурные аномалии кариотипа выявлены в виде мозаичной формы (№ 3, 7, 10–12).

Средний возраст матери ( $32,6 \pm 6,10$  лет) при нормальном кариотипе в цитотрофобласте хориона (n = 72) практически не отличался от такового для всей выборки в целом. Возраст матери оказался повышенным в группе моносомий ( $34,2 \pm 6,24$  лет; n = 11) и трисомий ( $34,0 \pm 6,37$  лет; n = 81). В группе структурных перестроек (n = 8) он составил  $30,0 \pm 4,04$  лет, при полиплоидии (n = 24) —  $29,8 \pm 4,81$ . Наименьший средний возраст матери ( $26,5 \pm 3,87$  лет; n = 4) был в группе сочетанных патологий (табл. 3).

Таблица 5

## Случаи структурных перестроек хромосом в цитотрофобласте хориона

№	Кариотип	Число случаев (n)	Возраст матери, лет	Срок беременности, недель
Структурные перестройки				
1	46,XY,?der(8)(p10→pter)	1	28	7
2	47,XX,-7,+i(7)(p10),+i(7)(q10)	1	25	7
3	46,XX,add(2)(p23~24)[8]/46,XX[13]	1	27	8,5
4	46,XY,der(4;?)(q27;?)	1	29	14,5
Сочетанные аномалии				
5	47,XX,+8,i(8)(q10)	1	31	8
6	47,XY,idic(8)(q11),9ph,+16	1	28	5
7	47,XX,+9[17]/47,XX,+der(9)[16]/46,XX[2]	1	25	8
8	46,X,+13,der(13;15)(q10;q10),+15	1	22	8
С маркерными хромосомами				
9	47,XX,+mar	1	30	7,5
10	47,XX,+mar[5]/46,XX[28]	1	29	7,5
11	46,XY,-18,+mar[9]/46,XY[9]	1	35	5,5
12	47,XY,+mar[14]/46,XY[2]	1	37	8

Таблица 6

## Случаи моносомии и полиплоидии в цитотрофобласте хориона

Кариотип	Число случаев (n)	Возраст пациентки, лет	Срок беременности, недель
Моносомия			
45,XY,-21	1	27	9
45,X	10	21-40	7-11
Триплоидия			
69,XXX	3	27-31	6-13
69,XXY	10	23-44	3,5-14,0
Гипертриплоидия			
70,XXX,+14	1	26	9,5
70,XXY,+3	1	33	6,5
70,XXXU	1	26	6,5
Тетраплоидия			
92,XXXX	3	26-36	7-8
92,XXYY	2	25-33	6-7
92,XXYY[40]/46,XY[3]	1	29	7,5
Гипертетраплоидия			
93,XXXX,+7	1	32	6
93,XXXU,+9	1	33	5

При анализе частоты численных аномалий кариотипа плода в зависимости от возраста матери выявлена тенденция к повышению суммарной частоты трисомий и снижению частоты полиплоидий с увеличением возраста матери (рис. 2). Достоверная положительная корреляция ( $r = +0,4182$ ) была

установлена только между частотой трисомии 22 у плода и возрастом матери (рис. 3). Частота встречаемости нормальных кариотипов у плода с возрастом матери не изменялась (рис. 2).

Анализ распределения частоты плодов с нормальным и аномальным кариотипами в зависи-

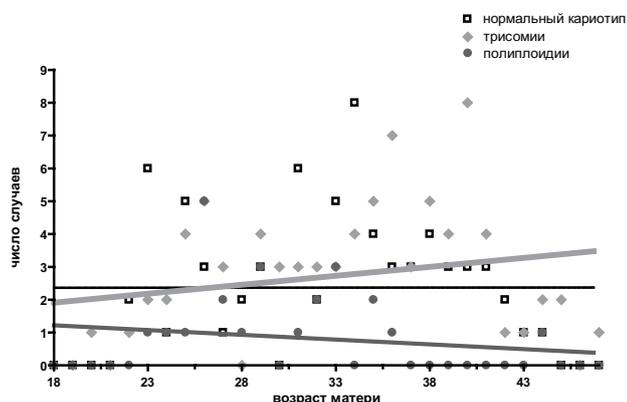


Рис. 2. Эмпирические данные и линии регрессии числа замерших беременностей с нормальным кариотипом, трисомией и полиплоидией по возрасту матери. Уравнения линейной регрессии для нормального кариотипа, триплоидии и трисомии  $y = 2,36 + 0,00022x$  ( $p = 0,99$ ),  $y = 0,93 + 0,055x$  ( $p = 0,22$ ) и  $y = 1,74 - 0,029x$  ( $p = 0,27$ ) соответственно. Коэффициенты корреляции  $+0,038$  ( $p = 0,84$ );  $+0,217$  ( $p = 0,25$ ); и  $-0,22$  ( $p = 0,23$ ), ( $n = 30$ )

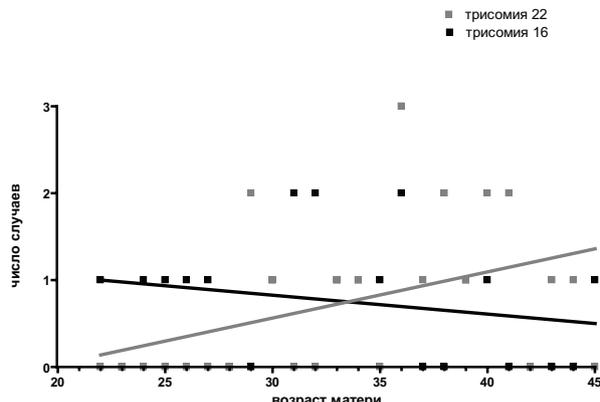


Рис. 3. Эмпирические данные и линии регрессии числа замерших беременностей с трисомией по хромосомам 16 и 22 по возрасту матери. Уравнения линейной регрессии для трисомии 16 и 22  $y = 1,48 - 0,022x$  ( $p = 0,28$ ),  $y = -1,03 + 0,055x$  ( $p = 0,04$ ) соответственно. Коэффициенты корреляции  $-0,25$  ( $p = 0,24$ ),  $+0,49$  ( $p = 0,02$ ), ( $n = 24$ )

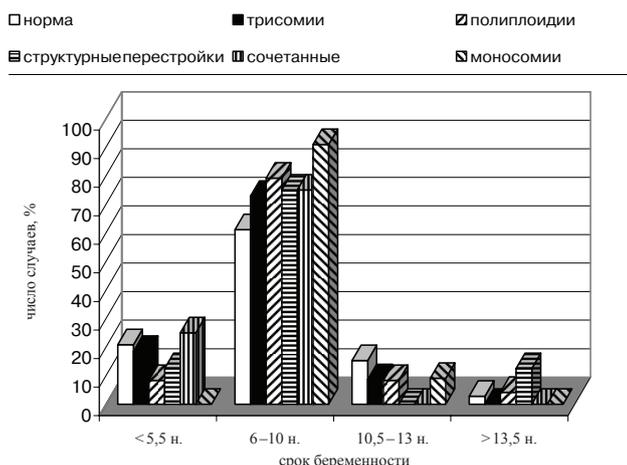


Рис. 4. Распределение частоты встречаемости замерших беременностей с нормальными и аномальными кариотипами в зависимости от срока беременности

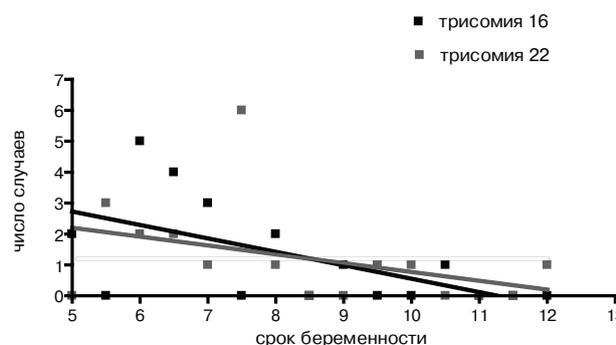


Рис. 5. Эмпирические данные и линии регрессии числа замерших беременностей с трисомией по хромосомам 16 и 22 по сроку беременности. Уравнения линейной регрессии для трисомии 16 и 22  $y = 4,90 - 0,44x$  ( $p = 0,02$ ),  $y = 3,63 - 0,29x$  ( $p = 0,14$ ) соответственно. Коэффициенты корреляции  $-0,57$  ( $p = 0,02$ ),  $-0,46$  ( $p = 0,08$ ), ( $n = 15$ )

мости от срока беременности показал, что большинство случаев приходится на срок 6–10 недель (рис. 4). Например, 9 случаев моносомии X выявлено именно на этом сроке, и только один — на сроке 11 недель. Для наиболее часто встречающихся в нашей выборке трисомий (по хромосомам 16 и 22) мы провели корреляционный анализ. Была выявлена достоверная отрицательная корреляция ( $r = -0,5883$ ) между частотой трисомии 16 и сроком беременности (рис. 5). Значение коэффициента корреляции для трисомии 22 было недостаточно, хотя очевидна тенденция уменьшения частоты трисомии 22 в хорионе с увеличением срока (рис. 5).

В таблице 7 представлены данные по соотношению полов в исследованной выборке. При нормальном кариотипе соотношение по полу (М : Ж)

составило 1,12. При анализе группы хромосомной патологии в целом этот коэффициент был равен 0,91. Анализ соотношения полов в отдельных группах геномных и хромосомных мутаций не выявил достоверных отличий. Обращает на себя внимание факт, что в группе триплоидии соотношение полов составило 3,3.

### Обсуждение

Эффективность цитогенетического анализа, т. е. доля успешных цитогенетических диагнозов, во многом определяется качеством полученного плодного материала. Как показал наш опыт, основными причинами неудач при кариотипировании abortного материала являлись отсутствие

Таблица 7

Соотношение по полу при нормальном и патологичном кариотипах в группах абортусов разного срока развития

Срок	Нормальный кариотип		Патологичный кариотип		Итого		Всего
	мужской	женский	мужской	женский	мужской	женский	
≤5,5	7	7	11	9	18	16	34
6–10	23	24	46	49	68	73	141
10,5–13,0	7	2	3	9	10	11	21
≥13,5	1	1	2	0	3	1	4
Всего	38	34	61	67	99	101	200

в образце ворсинчатого хориона, транспортировка материала в сухом флаконе, замена физиологического раствора на другие среды (формалин, дистиллированная вода), увеличение времени доставки образцов (3 и более часов). Кроме того, на эффективность цитогенетического исследования влияют и другие факторы. Среди них можно выделить степень мацерации ткани хориона, которая зависит от продолжительности периода между остановкой развития беременности до момента ее прерывания. Желательно, чтобы этот период не превышал 2 недели. Эффективность кариотипирования в нашем исследовании при использовании препаратов, приготовленных прямым методом из клеток цитотрофобласта хориона, составила 96,8 % (211 из 218 случаев). В аналогичных исследованиях других авторов эффективность варьировала от 49 до 100 % [15, 19, 22, 23, 33, 31]. Следует отметить, что большинство подобных работ выполнено с помощью трудоемких методов длительного культивирования *in vitro* фибробластов кожи плода, клеток хориона и плаценты [7, 11, 14, 19, 32]. При использовании этих методов высока вероятность артефактов. Прежде всего, они обусловлены контаминацией культур материнскими клетками, а также селективными пролиферативными свойствами клеток с нормальным и аномальным кариотипом в условиях *in vitro*. В отличие от клеточных культур прямые методы получения препаратов хромосом из активно делящихся *in vivo* клеток цитотрофобласта хориона позволяют получить объективную информацию о кариотипе исследуемого образца [22, 23, 31]. Следует, однако, подчеркнуть, что при любом методе получения препаратов хромосом возможны неудачи, связанные с низкой митотической активностью клеток. В последние годы для решения этой проблемы используют молекулярные и молекулярно-цитогенетические (FISH, CGH) методы анализа некультивированных клеток [5, 6, 20, 21, 26]. Однако по информативности эти методы уступают стандартному кариотипированию, и спектр выявляемых с их помощью аномалий кариотипа существенно зависит от выбранной модификации метода.

В настоящей работе мы использовали ускоренный «прямой» метод получения препаратов хромосом из ворсин хориона, разработанный в нашей лаборатории [12]. Его неоспоримое достоинство заключается в том, что последующее кариотипирование проводится только на тех клетках, которые вступили в митоз *in vivo* и, следовательно, являются клетками эмбрионального происхождения. Таким образом, полученные результаты отражают реальную частоту нормальных и аномальных кариотипов в исследованных образцах хориона.

В целом, полученные в нашей работе данные хорошо согласуются с результатами аналогичных исследований других авторов (табл. 8). Частота и спектр аномалий кариотипа при неразвивающейся беременности и самопроизвольных абортусов поразительно совпадают и обнаруживают специфику как в отношении типов аномалий, так и хромосом, принимающих в них участие [11, 19, 22, 31, 32, 37]. Известно, что ранние эмбриональные потери более чем в 50 % случаев связаны с хромосомным дисбалансом, при этом на долю трисомий приходится около 30 %, вклад полиплоидии и моносомии X оценивается примерно по 10 % [20]. В нашей выборке геномные и хромосомные мутации обнаружены в 64 % случаев, из которых трисомии (включая множественные) составили 41 % от общего числа кариотипов, полиплоидии — 12 %, а моносомии — 6 %. Отличительной особенностью нашей выборки оказалось относительно большое число множественных трисомий (7,8 % от всех аномалий) (табл. 8), что согласуется с данными, полученными при исследовании спонтанных абортусов до 10-й недели беременности [35].

Геномные мутации, выявленные в хорионе при неразвивающейся беременности (табл. 3), четко дифференцируют хромосомы по их значимости для раннего эмбрионального развития. Так, моносомии аутосом (за исключением редких случаев моносомии 21), регулярно регистрируемые у дробящихся зародышей [2], не выявлены при кариотипировании материала от эмбрионов постимплантационных стадий развития. С внед-

рением в диагностическую практику молекулярно-цитогенетических методов (FISH, CGH, агау-СGH) спектр хромосомных аномалий у самопроизвольных выкидышей раннего срока существенно расширился за счет редких типов анеуплоидии (моносомии аутосом, двойные и тройные анеуплоидии), хромосомного мозаицизма и несбалансированных структурных перестроек [6, 21]. В частности, с помощью FISH с использованием ДНК-зондов на все хромосомы набора отмечена необычно высокая частота (19%) мозаичных вариантов моносомий 7, 15, 21 и 22 у спонтанных абортусов I триместра, клетки которых характеризовались дегенерацией и отсутствием пролиферации в культуре [5].

Практически во всех опубликованных работах, посвященных ранним репродуктивным потерям, крайне редко выявляются трисомии по хромосомам 1 и 19, а самыми частыми оказываются трисомии 16 и 22 [29, 30]. Такая закономерность отмечается и в нашей работе. Наряду с этим, нами не выявлено ни одного случая простой трисомии по половым хромосомам, тогда как в других изученных выборках это одна из наиболее часто встречающихся патологий (табл. 8).

При репродуктивных потерях в I триместре беременности на долю структурных перестроек приходится около 5–6 % аномалий кариотипа [25, 27]. Некоторые перестройки могут быть унаследованы от родителей-носителей сбалансированных хромосомных мутаций. В нашем исследовании доля хромосомных мутаций составила 6,2 % случаев, половина из которых сочеталась с геномными мутациями (3,1%). Кроме того, в 3,1 % случаев был зарегистрирован особый тип аномалий кариотипа — трудно идентифицируемые маркерные хромосомы.

Различия в выявляемой частоте и структуре хромосомной патологии при кариотипировании абортусов могут зависеть от ряда факторов. Согласно материалам ВОЗ (1966), к числу наиболее значимых факторов относятся: сроки прерывания беременности; средний возраст беременных женщин в популяции; неустановленные индуцированные аборты; отбор образцов для исследования по сроку беременности, тяжести нарушения развития и качеству материала; методы культивирования тканей; контаминация культур тканей клетками матери [7, 9].

Частота спонтанных геномных и хромосомных мутаций в хорионе при неразвивающейся беременности коррелирует со сроком беременности. Частота хромосомных нарушений (4–60%) максимальна на доимплантационных стадиях. Она снижается до 8–10% во время имплантации и начала активного органогенеза (к 8–10-й неделе беременности) и составляет около 5 % во

II триместре. При этом общая структура геномных и хромосомных мутаций у эмбрионов и плодов на более поздних стадиях развития сохраняется. Однако спектр хромосом, вовлеченных в геномные мутации, резко сужается и соответствует таковому при прогрессирующей беременности — после 10-й недели развития доминирует трисомия 21, за ней следуют трисомии 18 и 13, численные аномалии в системе половых хромосом и, наконец, триплоидия. У новорожденных хромосомные aberrации встречаются сравнительно редко и регистрируются примерно у 0,5–0,9 % [2].

Частота хромосомных аномалий коррелирует также с тяжестью нарушения эмбрионального развития [11]. В нашей работе образцы хориона были получены от погибших зародышей, что, видимо, объясняет в целом высокий процент аномальных кариотипов (64%). Следует отметить, что большинство образцов как с нормальным (61 % случаев), так и aberrантным кариотипом (75,8 % случаев) было получено в срок 6–10 недель (рис. 4). Полученные результаты служат наглядной иллюстрацией тому, что период, соответствующий плацентации, нейруляции и началу активного органогенеза, является критическим для эмбрионального развития человека [10].

Хорошо известным фактором, увеличивающим риск хромосомных болезней у плода, является возраст матери [29, 30]. В нашем исследовании, однако, не выявлено достоверного влияния возраста матери на частоту трисомий в хорионе (рис. 2), за исключением трисомии 22 (рис. 3), что, скорее всего, объясняется малочисленностью нашей выборки. Следует отметить, что, по данным некоторых исследователей, трисомия 16 не зависит от возрастного фактора [29].

Важным показателем, отражающим величину генетического груза в популяции, является соотношение полов. Первичное соотношение полов, возникающее при оплодотворении, неизвестно. Вторичное соотношение полов, которое устанавливается у новорожденных, то есть после пренатального естественного отбора, равно 1,05–1,07 [3, 36]. По данным разных авторов, соотношение полов у спонтанных абортов варьирует от 1,32 до 0,34 [28, 31]. В нашей работе соотношение полов в группе с нормальным кариотипом составило 1,12, а в объединенной группе патологии — 0,91 (табл. 7), что, скорее всего, свидетельствует об отсутствии отбора по полу.

Вместе с тем, нами обнаружена преимущественная гибель триплоидных эмбрионов мужского пола на ранних стадиях эмбриогенеза. Так, при неразвивающейся беременности в 7 из 10 случаев установлен мужской кариотип (соотношение 3,3) (табл. 6), тогда как при прогрессирующей беременности выявлено 4 плода с кариотипом 69,XXY

## Спектр и структура хромосомной патологии в абортном материале замерших беременностей по данным разных авторов

Источник	Число проанализированных случаев	Средний возраст матерей в обследованной выборке	Кариотип				
			норма n (%)	хромосомная патология			
				всего n (%)	трисомия	триплоидия	тетраплоидия
B. Eiben et al., 1990 [22]	750	—	374 (50)	376 (50)	62,1	12,4	9,2
M. D. Stephenson et al., 2002 [37]	420	—	225 (54)	195 (46)	62,6	13,9	5,1
Назаренко и др., 2002 [11]	552	26,1 ± 6,2	271 (49)	281 (51)	37,0	19,6	25,3
E. Ljunger et al., 2005 [31]	259	31,9	100 (39)	159 (61)	55,3	10,7	3,8
M. Nagaishi et al., 2004 [19]	347	—	151 (44)	196 (56)	61,2	13,8	2,6
J. Menasha et al., 2005 [32]	717	35,7 ± 5,8	410 (57)	307 (43)	64,8	10,4	1,6
Собственные данные	200	32,7 ± 6,15	72 (36)	128 (64)	55,5	12,5	6,3

и 16 — с кариотипом 69,XXX (соотношение по полу 0,25) (собственные результаты пренатальной диагностики, неопубликованные данные). Крайне низкая частота спонтанных выкидышей с кариотипом 69,XYU, а также смещение соотношения эмбрионов в сторону 69,XXX по мере развития позволяет предположить, что наличие двух активных X-хромосом обеспечивает баланс между аутосомами и половыми хромосомами. Это предположение нуждается в прямом экспериментальном подтверждении.

Проблема репродуктивных потерь не исчерпывается хромосомным дисбалансом, тем более что во многих случаях кариотип абортуса оказывается нормальным. В последнее время большое внимание уделяется изучению роли генов «предрасположенности» к невынашиванию. Особый интерес в этом плане представляют гены детоксикации — глутатион-S- и N-ацетилтрансфераз (*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *NAT2*), гены главного локуса гистосовместимости HLA, мембранные антигены групп крови A и B, гены мембранных рецепторов клеточного узнавания — интегрины, Ig (*GPIIIa*, *GPIIIb*), а также гены фоллатного цикла (*MTHFR*, *MRR*) [1]. Не исключено, что некоторые аллельные варианты этих генов способствуют невынашиванию, в том числе и самопроизвольному прерыванию беременности плодом с хромосомным дисбалансом. Для многих из этих генов уже известны функциональные полиморфизмы, которые коррелируют с невынашиванием беременности.

Естественно, что причиной ранних спонтанных абортов могут быть и многие другие факторы, такие как нарушения гормонального баланса, инфекции, фосфолипидные антитела и многие другие. При наличии этих повреждающих факторов прекращение эмбрионального развития и прерывание беременности обычно происходят в более поздние сроки.

Таким образом, аномалиям кариотипа принадлежит значительное место в этиологии неразвивающейся беременности ранних сроков. Согласно полученным нами данным, они являлись основной причиной остановки эмбрионального развития в 64 % случаев. Большинство аномалий кариотипа были обусловлены спорадическими геномными мутациями, возникшими при созревании гамет, при оплодотворении или в период дробления. Риск хромосомных аномалий у плода при следующей беременности в этих случаях приближается к популяционному. При аномальном кариотипе плода, обусловленном наличием сбалансированных хромосомных перестроек у родителей (транслокаций, инверсий), риск повторного образования несбалансированной зиготы значительно выше популяционного. В случае отсутствия хромосомных аномалий в абортном материале представляется целесообразным комплексное обследование родителей, включающее кариотипирование обоих супругов, анализ носительства инфекций, выяснение эндокринного статуса, а также особенностей аллельных вариантов генов «предрасположенности» к невынашиванию, рекомендуемой ге-

Таблица 8

(% от общего числа патологии)						
моносомия X	структурные перестройки	множественные трисомии	трисомии половых хромосом	моносомия аутосом	сочетанные	другие
10,5	4,7	—	—	—	—	1,1
9,2	4,1	4,6	—	—	—	0,5
—	3,5	1,8	10,7	2,1	—	—
9,4	—	4,4	8,8	—	—	7,6
12,2	4,6	4,6	—	1,0	—	—
13,7	4,9	3,6	—	—	—	1
7,8	3,1	7,8	—	0,8	3,1	3,1

нетической картой репродуктивного здоровья [2, 10].

В заключение следует подчеркнуть, что кариотипирование позволяет установить причину неразвивающейся беременности, оценить повторный риск невынашивания беременности и в каждом конкретном случае определить тактику дальнейших лечебно-диагностических мероприятий.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 05-04-49175а) и фонда U. S. Civilian Research Development foundation for the Independent States of the Former Soviet Union.

## Литература

1. Баранов В. С. Геном человека и гены «предрасположенности»: введение в предиктивную медицину / Баранов В. С., Баранова Е. В., Иващенко Т. Э., Асеев М. В. — СПб.: Ин-термедика, 2000. — 271 с.
2. Баранов В. С. Цитогенетика эмбрионального развития человека / Баранов В. С., Кузнецова Т. В. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2007. — 640 с.
3. Головачев Г. Д. Наследственность человека и внутриутробная гибель / Головачев Г. Д. — М.: Медицина, 1983. — 152 с.
4. Кулиев А. М. Фенотипические эффекты хромосомных эмбриолетелей человека: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1976. — 39 с.
5. Лебедев И. Н. Особенности фенотипической экспрессии аутосомных моносомий при патологии постимплантационного развития человека / Лебедев И. Н., Назаренко С. А. // Онтогенез. — 2004. — Т. 35, № 1. — С. 1–8.
6. Молекулярно-цитогенетическая характеристика хромосомного дисбаланса в клетках спонтанных абортусов человека с низкой пролиферативной активностью *in vitro* / Назаренко С. А., Лебедев И. Н., Островерхова Н. В. [и др.] // Генетика. — 2003. — Т. 39, № 8. — С. 1111–1122.
7. Назаренко С. А. Изменчивость хромосом и развитие человека / Назаренко С. А. — Томск: Изд-во Томского университета, 1993. — 200 с.
8. Назаренко С. А. Тест-система внешнего контроля качества цитогенетических исследований в учреждениях медико-генетической службы / Назаренко С. А., Васильева Е. О. — Томск: Печатная мануфактура, 2003.
9. Основы цитогенетики человека / Прокофьева-Бельговская А. А., Бочков Н. П., Гринберг К. Н. [и др.]; ред. А. А. Прокофьева-Бельговская. — М.: Медицина, 1969. — 544 с.
10. Пренатальная диагностика наследственных и врожденных болезней / Ред. Э. К. Айламазян, В. С. Баранов. — М.: МЕДпресс-информ, 2006. — 416 с.
11. Структура хромосомных нарушений у 552 спонтанных абортусов Томской популяции / Назаренко С. А., Суханова Н. Н., Лебедев И. Н. [и др.] // Медицинская генетика. — 2002. — Т. 1, № 6. — С. 271–276.
12. Цитогенетические методы / Кузнецова Т. В., Логинова Ю. А., Чиряева О. Г. [и др.] // Медицинские лабораторные технологии. Т. 2. / Ред. А. И. Карпищенко — М., 1999. — С. 550–578.
13. A prospective study of early pregnancy loss / Elish N. J., Saboda K., O'Connor J. O. [et al.] // Hum. Reprod. — 1996. — Vol. 11. — P. 406–412.
14. About the Sex Ratio in Connection with Early Embryonic Mortality in man / Evdokimova V. N., Nikitina T. V., Lebedev I. N. [et al.] // Russian J. of Developmental Biology. — 2000. — Vol. 31, N 4. — P. 251–257.

15. Andrew's T. Cytogenetic studies in spontaneous abortues / Andrew's T., Dunlop W., Roberts D. F. // Hum. Genet. — 1984. — Vol. 66. — P. 77–84.
  16. Boue J. G. Les aberrations chromosomiques dans les avortements spontanés humains / Boue J. G., Boue A. // Press Med. — 1970. — Vol. 78, N 14. — P. 635–641.
  17. Carr D. H. Chromosome studies in selected spontaneous abortions. Polyloidy in man / Carr D. H. // J. Med. Genet. — 1971. — Vol. 8, N 2. — P. 164–174.
  18. Carr D. H. Chromosome studies in spontaneous abortious / Carr D. H. // Am. J. Obstet. Gynec. — 1965. — Vol. 26, N 3. — P. 308–326.
  19. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan / Nagaishi M., Yamamoto T., Linuma K. [et al.] // J. Obstet. Gynaecol. Res. — 2004. — Vol. 30, N 3. — P. 237–241.
  20. Comparative genomic hybridization in combination with flow cytometry improves results of cytogenetic analysis of spontaneous abortions / Lomax B., Tang S., Evica Separovic, Phillips D. [et al.] // Am. J. Hum. Genet. — 2000. — Vol. 36. — P. 1349–1356.
  21. Comparative genomic hybridization-array analysis enhances the detection of aneuploidies and submicroscopic imbalance in spontaneous miscarriages / Schaeffer A. J., Chung J., Heretis K. [et al.] // Am. J. Hum. Genet. — 2004. — Vol. 74. — P. 1168–1174.
  22. Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct-preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage / Eiben B., Bartels I., Bahr-Porsch't S. [et al.] // Am. J. Hum. Genet. — 1990. — Vol. 47. — P. 656–663.
  23. Cytogenetic study of spontaneous abortions by transabdominal villus sampling and direct analysis of villi / Sanchez J., Franz L., Collia F. [et al.] // Prenat. Diagn. — 1999. — Vol. 19. — P. 601–603.
  24. Estimates of human fertility and pregnancy / Zinaman M. G., Clegg D. E., Brown C. C. [et al.] // Fertil. Steril. — 1996. — Vol. 65. — P. 503–509.
  25. Frequency of abnormal karyotypes among abortuses from women with or without a history of recurrent spontaneous abortious / Stern C. J., Dorfmann A. D., Gutierrez-Najjar A. J. [et al.] // Fertil. Steril. — 1996. — Vol. 65. — P. 250.
  26. Genetic changes in human fetuses from spontaneous abortion after *in vitro* fertilization detected by comparative genomic hybridization / Tan Y.-Q., Hu L., Lin G. [et al.] // Biology of Reproduction. — 2004. — Vol. 70. — P. 495–499.
  27. Goddijn M. Genetic aspects of miscarriage / Goddijn M., Leschot N. J. // Baillieres Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. — 2000. — Vol. 14. — P. 855–865.
  28. Halder A. Skewed sex ratio and low aneuploidy in recurrent early missed abortion / Halder A., Fauzdar A. // Indian J. Med. Res. — 2006. — Vol. 124. — P. 41–50.
  29. Hassold T. J. Relationship of Maternal Age and Trisomy among Trisomic Spontaneous Abortions / Hassold T. J., Warburton D., Kline J., Stein Z. // Am. J. Hum. Genet. — 1984. — Vol. 36. — P. 1349–1356.
  30. Hassold T. J. Trisomy in man / Hassold T. J., Jacobs P. A. // Ann. Rev. Genet. — 1984. — Vol. 18. — P. 69–97.
  31. Ljunger E. Chromosomal anomalies in first-trimester miscarriages. / Ljunger E., Cnattingius S., Lundin C., Anneren G. // Acta Obstet. Gynecol. Scand. — 2005. — Vol. 66. — P. 1516–1521.
  32. Menasha J. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: new insights from a 12-year study / Menasha J., Levy B., Hirschhorn K., Kardon N. // Genetics in Medicine. — 2005. — Vol. 7. — P. 251–263.
  33. Postmortem chorionic villi sampling is a better method for cytogenetic evaluation of early fetal loss than culture of abortous material / Jonson P. M., Drugan A., Koppitch F. [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. — 1990. — Vol. 163. — P. 1505–1510.
  34. Risk factors in miscarriage: a review / Garcia-Enguidanos A., Calle M. E., Valero J. [et al.] // Europ. J. of Obstetrics Gynecology and Repr. Biology. — 2002. — Vol. 102. — P. 111–119.
  35. Robinson W. P. The origin of abnormalities in recurrent aneuploidy/polyploidy / Robinson W. P., McFadden D. E., Stephenson M. D. // Am. J. Hum. Genet. — 2001. — Vol. 69. — P. 1245–1254.
  36. Sex ratio in fetuses and infants with autosomal aneuploidy / Huether A. C., Martin R. L., Stoppelman S. M. [et al.] // Am. J. Med. Genet. — 1996. — Vol. 63, N 3. — P. 492–500.
  37. Stephenson M. D. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study / Stephenson M. D., Awartani K. A., Robinson W. P. // Hum. Reprod. — 2002. — Vol. 2, N 2. — P. 446–451.
- DIRECT CYTOGENETIC STUDY OF CHORIONIC SAMPLES FROM THE ARRESTED PREGNANCY TISSUES
- Chiryayeva O. G., Petrova L. I., Sadik N. A., Dudkina V. S., Pendina A. A., Fedorova I. D., Kuznetsova T. V., Baranov V. S.
- **Summary:** The present paper summarizes results of cytogenetic study of the chorionic samples of 200 arrested pregnancies. Frequency and spectrum of karyotype pathology and its correlation with maternal age and term of gestation, sex ratio and type of aberration were analyzed. The results are compared and discussed with relevant other studies.
- **Key words:** arrested pregnancy; karyotyping; chromosome and genomic mutations