

ТКАЧ І. Р.^{1✉}, ГУЛЕЮК Н. Л.¹, ЗАСТАВНА Д. В.¹, БЕЗКОРОВАЙНА Г. М.¹, ГЕЛЬНЕР Н. В.¹, СОСНІНА К. О.¹, БЕНЬКО О. В.², СНІЖКО Т. Б.³

¹ Державна Установа «Інститут спадкової патології НАМН України», Україна, 79008, м. Львів, вул. Лисенка, 31а, ORCID:0000-0002-8370-6935, 0000-0001-7697-4117, 0000-0002-3858-7180, 0000-0002-1940-9928, 0000-0002-5193-1847, 0000-0003-4527-2010

² КНП «Львівське територіальне медичне об'єднання «Клінічна лікарня планового лікування, реабілітації та паліативної допомоги» відокремлений підрозділ «Лікарня князя Лева», Україна, 79019, м. Львів, вул. Ужгородська, 1

³ Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра акушерства та гінекології ім. І. Д. Ланового,

Україна, 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2

✉ tkach.iryana.ihp@gmail.com, 0979864820

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ЧИСЕЛЬНИХ АНОМАЛІЙ ХРОМОСОМ У МАТЕРІАЛІ ВАГІТНОСТЕЙ ВТРАЧЕНИХ ДО ТА ПІСЛЯ ПОВНОМАСШТАБНОГО ВТОРГНЕННЯ РФ

Мета. Приблизно 25 % жінок втрачали принаймні одну вагітність. Прогноз репродуктивної функції жінок із втратами вагітності є складним і у багатьох випадках спирається на результати каріотипування матеріалу репродуктивних втрат. Вивчали особливості каріотипу матеріалу вагітностей, втрачених до та після повномасштабного вторгнення рф. **Методи.** Використовували GTG-метод та інтерфазний FISH з набором міток до хромосом 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, X та Y. **Результати.** Нормальний каріотип фіксували у 1430 випадках (63,1 %), проаналізованих до повномасштабного вторгнення (ДО) та у 788 випадках (59,6 %) — після вторгнення рф (ПІСЛЯ). У зразках ДО аномальний каріотип фіксували у 838 випадках (36,9 %), а ПІСЛЯ – у 534 випадках (40,4 %). **Висновки.** Чисельні аномалії, сумісні із постнатальним життям людини, частіше виявляли у матеріалі репродуктивних втрат, отриманих ПІСЛЯ (37,1 % vs 34,0 %). Летальні чисельні хромосомні аномалії частіше реєстрували у зразках вагітностей ДО (66,0 % vs 62,9 %).

Ключові слова: репродуктивні втрати, ворсини хоріона, чисельні аномалії хромосом.

Репродуктивне здоров'я залежить від генетичних та не генетичних чинників, хоча чітке їх розмежування очевидно неможливе. У переважній більшості порушення фертильності має поліетіологічну природу, значну роль у якій відіграє генетична predisпозиція. До суто генетичних чинників можна віднести вже встановлені моногенні хвороби і порушення структури

та чисельності хромосом. Причому порушення у геномі викликають елімінацію плода вже на ранніх етапах його онтогенезу, тобто спричиняються, як правило, до ранніх репродуктивних втрат. За узагальненими даними, 15–20 % клінічно діагностованих вагітностей закінчується мимовільним перериванням [1, 2], при цьому ранні репродуктивні втрати (РРВ, втрата вагітності у I триместрі) припадає до 78–80 % випадків, в II триместрі елімінується 18–20 % вагітностей, а у III – від 7 до 30 % вагітностей [3]. Причини таких втрат також різні: РРВ частіше обумовлені генетичними компонентами. Втрати вагітностей другого та третього триместру переважно зумовлені ендокринними, інфекційними, фізіологічними передумовами.

РРВ, певною мірою, можна вважати механізмом природного добору, який запобігає розвитку неповноцінних плодів, оскільки вважається, що серед причин навіть до 80 % складають порушення генетичні. До генетичних чинників перш за все слід віднести хромосомні порушення, які успадковуються від батьків або виникають *de novo* (частіше – транслокації, рідше – інверсії). Назагал, до 50 % викиднів у I триместрі, 30 % – у II триместрі й 3 % мертвороджень спричинені хромосомними аномаліями [4–12]. Чисельні хромосомні аномалії у плода зазвичай утворюються *de novo*, каріотип батьків при цьому є нормальним. Окрім чисельних хромосомних змін в ембріональному матеріалі, причиною РРВ можуть бути і структурні перебудови, успадковані від батьків: порушення

© ТКАЧ І. Р., ГУЛЕЮК Н. Л., ЗАСТАВНА Д. В., БЕЗКОРОВАЙНА Г. М., ГЕЛЬНЕР Н. В., СОСНІНА К. О., БЕНЬКО О. В., СНІЖКО Т. Б.

структури та чисельності хромосом, мозаїцизм, носійство збалансованих транслокацій.

Ряд мутації, які виникають в одному гені, і які призводять до важких метаболічних порушень також можна віднести до генетичних чинників ризику репродуктивних втрат. Хоча слід зазначити, що ембріони з такими порушеннями елімінуються досить рідко, деякі з цих порушень сприяють загибелі плоду у другому і третьому триместрах вагітності, але в більшості випадків вони народжуються.

Спектр аномалії каріотипу у матеріалі ранніх репродуктивних втрат представлений наступними хромосомними аномаліями (ХА): у 80 % випадків зустрічаються чисельними (кількісні) порушення хромосом; хромосомний мозаїцизм зустрічається у 8 % випадків, структурні перебудови хромосом зустрічаються у 6 % випадків [3, 4, 9, 10]. Найбільший відсоток ХА становлять аутосомні трисомії – 50–70 %, поліплоїдії – 20–25 % та моносомії по Х-хромосомі – 10–15 % [6, 8, 10–12]. Чисельні хромосомні аномалії зазвичай утворюються *de novo* у статевих клітинах батьків або впродовж перших поділів зиготи.

Згідно з літературними даними, трисомії за аутосомами зустрічаються з різною частотою. Найвищий відсоток трисомій характерний для хромосом 16, 22, 21, 15, 13, 18 у порядку спадання. Рідко зустрічаються трисомії по хромосомах 5, 11 і 17. На післяімплантаційних стадіях розвитку не зареєстровано випадків трисомії хромосом 1 і 19, припускається, що трисомії за цими хромосомами не сумісні з післяімпланційним розвитком та елімінуються на стадії бластомера [4, 5, 9, 13].

Ембріони/плоди із трисомією по гомосомам (Х та Y) мають кращі прогнози для успішного завершення вагітності у порівнянні з ембріонами із трисоміями по аутосомам. У випадку каріотипу 47,XXY шанс на успішне завершення вагітності складає 50 %. Ембріони/плоди із трисомією хромосоми Х (47, XXX), а також з додатковими хромосомами Y в каріотипі (47, XYY) народжуються у 99 % випадків [14].

Поліплоїдія є другою за частотою ХА і її частота становить 20–25 % [4, 6, 10–12]. Геномні зміни (поліплоїдія) фіксується лише у вигляді триплоїдії (69,XXX або 69,XXY) та тетраплоїдії (92,XXXX або 92,XXYY). Імовірно причиною виникнення тетраплоїдій, ймовірно, є помилки цитокінезу під час першого поділу зиготи після запліднення [15].

При порушенні розходження хромосом у гаметах формується не лише дисомія, але й нулісомія хромосом, і, як наслідок, утворюється зигота із моносомією. Зачаття із моносомією аутосом переважно втрачаються на доімплантаційному етапі вагітності, тому частка таких порушень каріотипу у матеріалі РРВ є незначною. Єдина форма моносомії, яка сумісна з постнатальним розвитком – моносомія Х. На ранніх стадіях наявність єдиної Х-хромосоми найчастіше призводить до загибелі. Серед самовільних викиднів частота плодів 45,X – найвища і становить 10–20 % [12]. Моносомія Х у 80 % випадків є наслідком помилок під час сперматогенезу, тому вона є батьківського походження, а вік жінки не впливає на виникнення моносомії Х [15]. Відсутність чоловічої статевої хромосоми є результатом уповільненого руху Y-хромосоми в анафазі, і згідно з останніми дослідженнями свідчать про зв'язок цієї затримки з делецією AZFc-регіону Y хромосоми.

Хоча чисельні хромосомні аномалії є найчастішою причиною репродуктивних втрат, не слід забувати про структурні перебудови хромосом. На частку структурних перебудов у матеріалі РРВ припадає 2–6 % [3, 4, 9, 10]. Близько 50 % структурних аберацій, насамперед делецій і дуплікацій, виникають *de novo* під час гаметогенезу. Друга частина – це випадки, коли аберація успадковується від одного з батьків, найчастіше в незбалансованій формі.

Припускають, що на життєздатність плода впливає форма хромосомного дисбалансу, а саме: до антенатальної загибелі менш схильні плоди з мозаїчним каріотипом. Частота хромосомного мозаїцизму у матеріалі РРВ становить 8 % [3, 4, 9, 10]. Мозаїцизм хромосом виникає на доімплантаційних стадіях розвитку внаслідок не розходження хромосом при поділі бластомерів. За своїм генезом мозаїцизм поділяють на митотичний і мейотичний.

Отже, очевидним є суттєвий внесок хромосомних аномалій ембріона/плода у генез його елімінації вже на найбільш ранніх етапах онтогенезу. З іншого боку, цікавим і не до кінця зрозумілим залишається факт, що певна частина плодів з ідентичними порушеннями розвивається аж до народження дитини з хромосомною патологією. Згідно з останніми міжнародними зведеними результатами [6, 7], у період від 10-го тижня вагітності до родів елімінується приблизно половина плодів з трисомією 21 (синдром Дауна), більше ніж 80 % з трисомією 18 (синдром

Едвардса), понад 60 % з трисомією 13 (синдром Патау) і близько 30 % плодів з моносомією X (синдром Шерешевського-Тернера). І все ж яка причина народження (навіть до 50 % випадків) хромосомної патології? У світлі цього логічним є пошук додаткових чинників, які долучаються до процесів репродуктивних втрат.

Матеріали і методи

Для досліджень використовували ворсини хоріона (ВХ), отримані внаслідок втрати вагітності у період ДО (з 2011 по 23 лютого 2022 р.) та ПІСЛЯ (з 24 лютого 2022 року) повномасштабного вторгнення рф.

Для аналізу зібраних зразків використовували стандартний цитогенетичний (GTG-метод) та молекулярно-цитогенетичний (інтерфазний FISH з набором центромерних міток до хромосом 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, X та Y) методи.

Результати та обговорення

Виконано цитогенетичне та молекулярно-цитогенетичне дослідження 2268 зразків ВХ ДО та 1322 зразків ВХ ПІСЛЯ.

У зразках ВХ ДО нормальний каріотип встановлено у 1430 випадках (63,1 %), аномалії каріотипу – у 838 (36,9 %). У зразках ВХ ПІСЛЯ нормальний каріотип встановлено у 788 випадках (59,6 %), аномалії каріотипу – у 534 (40,4 %). (табл. 1).

Отже, у зразках ВХ вагітностей, втрачених ПІСЛЯ, встановлено вищий відсоток чисельних хромосомних аномалій у порівнянні із зразками матеріалу вагітностей ДО, а саме: 40,4 % vs 36,9 %.

При аналізі отриманих даних враховували поліплоїдії (триплоїдії та тетраплоїдії) та хромосомні анеуплоїдії (аутосомні і гоносомні трисомії та моносомії). (табл. 2). У зв'язку з обмеженням молекулярно-цитогенетичного методу структурні перебудови не вивчали. За нормальний(еуплоїдний) вважали каріотип, у якому не фіксували патологій за допомогою стандартного цитогенетичного аналізу, а при молекулярно-цитогенетичному дослідженні були відсутні анеуплоїдії по хромосомам 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, X, Y.

У проаналізованих зразках ВХ репродуктивних втрат розподіл аномалій каріотипу наступний: аутосомні анеуплоїдії – ДО 51,8 % і ПІСЛЯ 53,2 %, поліплоїдії – ДО 27,6 % і ПІСЛЯ 27,7 %, гоносомні анеуплоїдії – ДО 20,6 % і ПІСЛЯ 19,1 %.

Усі аномалії каріотипу, встановлені у матеріалі репродуктивних втрат, поділили на дві групи (табл. 3):

- чисельні хромосомні аномалії, сумісні із постнатальним життям людини (трисомії хромосом 13, 18 та 21, гоносомні анеуплоїдії);

- летальні чисельні хромосомні аномалії (анеуплоїдії аутосом не включених у попередню групу та поліплоїдії).

Таблиця 1. Частота аномалій каріотипу у матеріалі вагітностей, втрачених ДО та ПІСЛЯ повномасштабного вторгнення рф

Каріотип	ДО		ПІСЛЯ	
	п	%	п	%
Всього	2268		1322	
Еуплоїдія	1430	63.1	788	59.6
Аномалії каріотипу	838	36.9	534	40.4

Таблиця 2. Частота та спектр аномалій каріотипу РВ залежно від того, коли вагітність втрачено

Каріотип	До повномасштабного вторгнення рф (n=838)		Після повномасштабного вторгнення рф (n=534)	
	п	%*	п	%*
Аутосомні анеуплоїдії	434	51,8	284	53,2
Гоносомні анеуплоїдії	173	20,6	102	19,1
Поліплоїдії	231	27,6	148	27,7

Примітка. * – відсоток обчислено від загальної кількості хромосомних аномалій у групі.

Таблиця 3. Частоти летальних та сумісних із постнатальним життям людини хромосомних аномалій залежно від того, коли вагітність було втрачено

Каріотип	ДО	ПІСЛЯ
	%*	%*
Чисельні хромосомні аномалії, сумісні із постнатальним життям людини	34,0	37,1
Летальні чисельні хромосомні аномалії	66,0	62,9

Примітка. * – відсоток обчислено від загальної кількості хромосомних аномалій у групі.

Отже, чисельні аномалії, сумісні із постнатальним життям людини, частіше виявляли у матеріалі репродуктивних втрат, отриманих ПІСЛЯ (37,1 % vs 34,0 %), а летальні чисельні хромосомні аномалії частіше реєстрували у зразках вагітностей ДО (66,0 % vs 62,9 %).

Висновки

1. У зразках вагітностей, втрачених після повномасштабного вторгнення рф, встановлено

вищий відсоток чисельних хромосомних аномалій у порівнянні зі зразками матеріалу вагітностей, втрачених до повномасштабного вторгнення, а саме: 40,4 % vs 36,9 %.

2. Чисельні аномалії, сумісні із постнатальним життям людини, частіше виявляли у матеріалі репродуктивних втрат, отриманих ПІСЛЯ (37,1 % vs 34,0 %). Летальні чисельні хромосомні аномалії частіше реєстрували у зразках вагітностей ДО (66,0 % vs 62,9 %).

References

- Gilmore D. H., McNay M. B. Spontaneous fetal loss rate in early pregnancy. *Lancet*. 1985. Vol. 1 (8420). P. 107. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(85\)91997-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(85)91997-X).
- Mills J. L., Simpson J. L., Driscoll S. G. et al. Incidence of spontaneous abortion among normal women and insulin-dependent diabetic women whose pregnancies were identified within 21 days of conception. *N Engl J Med*. 1988. Vol. 22. P. 1617–1623. <https://doi.org/10.1056/NEJM19881223192501>.
- Van den Berg M. M., van Maarle M. C., van Wely M., Goddijn M. Genetics of early miscarriage. *Biochim Biophys Acta*. 2012. Vol. 1822. P. 1951–1959. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2012.07.001>.
- Goddijn M., Leschot N. J. Genetic aspects of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2000. Vol. 14(5). P. 855–865. <https://doi.org/10.1053/beog.2000.0124>.
- Jurkovic D., Overton C., Bender-Atik R. Diagnosis and management of first trimester miscarriage. *BMJ*. 2013. Vol. 346. f3676. <https://doi.org/10.1136/bmj.f3676>.
- Gimovsky A. C., Pham A., Moreno S. C. et al. Genetic abnormalities seen on CVS in early pregnancy failure. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018. Vol. 31. <https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1542677>.
- Pylyp L. Y., Spynenko L. O., Verhoglyad N. V. et al. Chromosomal abnormalities in products of conception of first-trimester miscarriages detected by conventional cytogenetic analysis: a review of 1000 cases. *J Assist Reprod Genet*. 2018. Vol. 35 (2). P. 265–271. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-1069-1>.
- Menasha J., Levy B., Hirschhorn K., Kardon N.B. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: New insights from a 12-year study. *Genet Med*. 2005. Vol. 7. P. 251–263. <https://doi.org/10.1097/01.gim.0000160075.96707.04>.
- Dória S., Carvalho F., Ramalho C. et al. An efficient protocol for the detection of chromosomal abnormalities in spontaneous miscarriages or foetal deaths. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2009. Vol. 147. P. 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2009.07.023>.
- Eiben B., Bartels I., Bähr-Porsch S. et al. Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am J Hum Genet*. 1990. Vol. 47. P. 656–663.
- Soler A., Morales C., Mademont-Soler I. et al. Overview of Chromosome Abnormalities in First Trimester Miscarriages: A Series of 1,011 Consecutive Chorionic Villi Sample Karyotypes. *Cytogenetic and Genome Research*. 2017. Vol. 152 (2). P. 81–89. <https://doi.org/10.1159/000477707>.
- Simpson J. L. Genetics of spontaneous abortion. W: Recurrent pregnancy loss. Causes, controversies and treatment (red. HJA Carp). London : Informa Healthcare, 2007. P. 23–34.
- Warburton D. Cytogenetics of reproductive wastage: from conception to birth. In Mark, H. F. L. (ed.). *Medical Cytogenetics*. 2000. P. 213–246.
- Tartaglia N. R., Howell S., Sutherland A. et al. A review of trisomy X (47,XXX). *Orphanet J Rare Dis*. 2010. Vol. 5. P. 8. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-5-8>.
- Tobias E. S., Connor M., Ferguson-Smith M. Essential Medical Genetics. Wiley-Blackwell, 2011. 6th Edition. P. 332.

TKACH I. R.¹, HULEYUK N. L.¹, ZASTAVNA D. V.¹, BEZKOROVAINA H. M.¹, HELNER N. V.¹, SOSNINA K. O.¹, BENKO O. V.², SNIZHKO T. B.³

¹ State Institution "Institute of Hereditary Pathology NAMS of Ukraine",
Ukraine, 79008, Lviv, M. Lysenko str., 31a

² Municipal non-profit enterprise Lviv Territorial Medical Association "Clinical Hospital for Planned Treatment, Rehabilitation and Palliative Care", separate unit "Prince Lev Hospital", Ukraine, 79019, Lviv, Uzhhorodska str., 1

³ Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Obstetrics and Gynecology I. D. Lanovogo,
Ukraine, 76018, Ivano-Frankivsk, Halytska str., 2

COMPARATIVE ANALYSIS OF NUMERICAL CHROMOSOME ABNORMALITIES IN THE MATERIAL OF PREGNANCY LOST BEFORE AND AFTER THE FULL-SCALE INVASION OF THE RUSSIAN FEDERATION

Aim. Approximately 25 % of women have lost at least one pregnancy. The prognosis of reproductive function in women with pregnancy losses is complex and, in many cases, relies on the results of karyotyping of reproductive loss material. We studied the features of the karyotype of material of pregnancy lost before and after the full-scale invasion of the Russian Federation. **Methods.** Banding cytogenetic and interphase mFISH with the probe panel for chromosomes 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, X and Y were used. **Results.** Normal karyotype was established in 1430 cases (63.1 %) analyzed before full-scale invasion (BEFORE) and in 788 cases (59.6 %) – after invasion of Russian Federation (AFTER). In samples BEFORE, an abnormal karyotype was established in 838 cases (36.9 %) and AFTER – in 534 cases (40.4 %). **Conclusions.** Numerical chromosome abnormalities, compatible with postnatal human life were more frequently detected in reproductive loss material obtained AFTER (37.1 % vs 34.0 %). Lethal numerical chromosomal abnormalities were more frequently recorded in samples from pregnancies BEFORE (66.0 % vs 62.9 %).

Keywords: reproductive loss, chorionic villi, numerical chromosome abnormalities.