УДК 576.316:618.39-06 https://doi.org/10.7124/FEEO.v35.1662

ТКАЧ І. Р.[1]✉, ГУЛЕЮК Н. Л.[1], ЗАСТАВНА Д. В.[1], БЕЗКОРОВАЙНА Г. М.[1], ГЕЛЬНЕР Н. В.[1], БЕНЬКО О. В.[2]

[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

[2] КНП «3-я міська клінічна лікарня м. Львів», Україна, 79000, м. Львів, вул. Русових, 4

✉ *tkach.iryna.ihp@gmail.com*

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ 2554 ЗРАЗКІВ МАТЕРІАЛУ РАННІХ РЕПРОДУКТИВНИХ ВТРАТ

Мета. Ранні репродуктивні втрати (РРВ), якоюсь мірою, можна вважати механізмом природного добору, який запобігає розвитку нежиттєздатних плодів. Вважається, що серед причин РРВ навіть до 80 % складають генетичні порушення. До генетичних чинників РРВ, перш за все, слід зачислити порушення каріотипу, що спостерігаються у 50 % ранніх мимовільних переривань вагітності. Вивчали внесок хромосомних аномалій у генез ранніх репродуктивних втрат. ***Методи***. Використовували стандартний цитогенетичний (GTG) та молекулярно-цитогенетичний (інтерфазний FISH з набором центромерних міток до хромосом 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, X та Y) методи дослідження. ***Результати***. Виконали цитогенетичне та молекулярно-цитогенетичне дослідження 2554 зразків ворсин хоріону (ВХ), отриманих внаслідок мимовільних втрат вагітності. У 1638 випадках (64,1 %) встановлено нормальний каріотип, а патологічний – у 916 (35,9 %). Аномалії каріотипу у ВХ РРВ наступний: аутосомні анеуплоїдії – 478 (52,2 %), поліплоїдії – 256 (27,9 %), гоносомні анеуплоїдії – 182 (19,9 %). ***Висновки***. Серед аутосомних анеуплоїдій переважала трисомія 16 (26,9%), поліплоїдій – триплоїдія (24.6 %), гоносомних анеуплоїдій – моносомія X (18,4 %).

Ключові слова: ранні репродуктивні втрати, ворсини хоріона, хромосомні аномалії.

Ранні репродуктивні втрати – це втрата вагітності у терміні до 14 тижнів гестаційного розвитку, тобто у першому та на початку другого триместру вагітності [1]. У спектрі всіх переривань вагітності РРВ складають 75–80 % [2]. Ранні втрати вагітності, якоюсь мірою, можна вважати механізмом природного добору, який запобігає розвитку нежиттєздатних плодів. Вважається, що серед причин РРВ частка генетичнх порушень складає навіть до 80 %. До генетичних чинників РРВ, перш за все, слід зачислити порушення каріотипу. Назагал, до 50 % ранніх мимовільних переривань вагітності спричинені аномаліями каріотипу [3–11]. У біологічному матеріалі РРВ переважаюча частка хромосомних порушень (95 %) є порушення числа хромосом або плоїдності (2n) каріотипу. Серед них трисомії по аутосомам зустрічаються у 60 % випадків, моносомія по Х-хромосомі – у 20 %. Порушення плоїдності виявляють у 15 % РРВ, переважно у вигляді триплоідії [3, 5, 9–11]. Чисельні хромосомні аномалії у плода зазвичай утворюються *de novo* у статевих клітинах батьків або впродовж перших поділів зиготи, каріотип батьків при цьому є нормальним. Окрім чисельних хромосомних змін причиною РРВ можуть бути й аномалії каріотипу, що виникають внаслідок збалансованих хромосомних перебудов у батьків.

Слід зазначити, що трисомії аутосом зустрічаються з різною частотою. Найвищий відсоток трисомій характерний для хромосом 16, 22, 21, 15,13, 18 в порядку спадання [1, 3, 4, 8]. Рідко зустрічаються трисомії по хромосомах 5, 11 і 17 [12]. На післяімплантаційних стадіях розвитку не зареєстровано випадків трисомій хромосом 1 і 19. Вважають, що ці трисомії викликають такі порушення розвитку, що є несумісними з післяімпланційним розвитком та елімінуються на стадії бластули [13–15].

Серед анеуплоїдій великих хромосом (групи А) у матеріалі РРВ найчастіше спостерігають мозаїчну або повну трисомію хромосоми 3. Серед хромосом групи С переважають трисомії хромосом 7, 8, 9 [14].

© ТКАЧ І. Р., ГУЛЕЮК Н. Л., ЗАСТАВНА Д. В., БЕЗКОРОВАЙНА Г. М., ГЕЛЬНЕР Н. В., БЕНЬКО О. В.

Серед трисомій хромосом групи D (13, 14, 15) сублетальною є трисомія 13 (синдром Патау), до постнатального періоду розвитку досягає лише 3 % від усіх зачать. Її частка складає 6,5–10,3 % від усіх зачать із трисоміями. Трисомія хромосоми 15 є наступною по частоті серед хромосом цієї групи та становить 7,6–12,24 % від усіх зачать із трисоміями, та 1,7 до 5,6 % у матеріалі РРВ [5–7, 9–10].

Найвищий відсоток трисомій характерний для хромосоми 16 (група E), його внесок складає 18–26 % серед усіх трисомій та 10,6 % від усієї хромосомної патології, виявленої у матеріалі РРВ [5-7, 9-10].

Трисомії хромосом групи G (21 та 22) часто виявляють у матеріалі втрачених вагітностей. Так, частота трисомії хромосоми 21 становить 10-19,6 % від усіх трисомій, а хромосоми 22 – 9,9–18,5 % [5–7, 9–10]

Частота подвійних та потрійних трисомій у матеріалі репродуктивних втрат становить 0,21–2,8 % із залученням, переважно, хромосом 21, 18, 16, 13, 8, 2 і 15 та X [9].

Ембріони/плоди із трисомією по статевих хромосомах (X та Y) мають кращі прогнози для успішного завершення вагітності у порівнянні з ембріонами із трисоміями по аутосомах. У випадку каріотипу 47, XXY в ембріоні шанс пролонгування такої вагітності аж до народження дитини складає 50 % [16]. Ембріони/плоди із трисомією хромосоми X (47, XXX), а також з додатковими хромосомами Y в каріотипі (47, XYY) народжуються у 99 % випадків [16, 17].

Другою за частотою ХА є поліплоїдія, її частота становить 20–25% [3, 5, 9–11]. Поліплоїдія сумісна з внутрішньоутробним розвитком у людини лише у вигляді триплоїдії (69, XXX і 69, XXY) та тетраплоїдій (92, XXXX і 92, XXYY). Тетраплоїдію рідко виявляють у матеріалі РРВ через загибель таких зачать ще у доімплантаційний період. Причиною виникнення тетраплоідій, ймовірно, є помилки цитокінезу першого поділу зиготи після запліднення [18].

Наслідком нерозходження хромосом у гаметах є не лише дисомія, але й нулісомія хромосом, і, як наслідок, формується зигота із моносомією. Зачаття із моносомією аутосом переважно втрачаються на доімплантанційному етапі вагітності, тому частка таких порушень каріотипу у матеріалі РРВ є незначною. Єдина форма моносомії, сумісної із внутрішньоутробним та постнатальним розвитком – моносомія X, проте приблизно 90–95 % зачать із каріотипом 45, X гине протягом перших 12-ти тижнів вагітності. Серед мимовільних викиднів частота плодів 45, X – найвища і становить 10-20 % [11]. Моносомія X у 80 % випадків є батьківського походження та формується внаслідок порушення розходження хромосом під час сперматогенезу [18].

Структурні перебудови хромосом виявляють у 2–6 % РРВ [2–3, 8–9]. Структурні аберації, насамперед делеції і дуплікації, виникають *de novo* (50 % випадків) під час гаметогенезу або є наслідком формування генетично незбалансованих гамет у батьків-носіїв хромосомних [11]. Окрім цього вважають, що на життєздатність плода впливає форма хромосомного дисбалансу. Існує гіпотеза, що до антенатальної загибелі менш схильні плоди з мозаїчним каріотипом.

Матеріали і методи

Матеріалом досліджень слугували ворсини хоріону, отримані внаслідок ранньої втрати вагітності. Аналіз отриманих зразків проводили з використанням стандартного цитогенетичного (GTG-метод) та молекулярно-цитогенетичного (інтерфазний FISH з набором центромерних міток до хромосом 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, X та Y) методів. За нормальний вважали каріотип, у якому не фіксували патологій за допомогою стандартного цитогенетичного аналізу, а при молекулярно-цитогенетичному дослідженні – відсутні анеуплоїдії по хромосомам 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, X, Y.

Результати та обговорення

Проведено цитогенетичне та молекулярно-цитогенетичне дослідження 2554 зразків ВХ, отриманих з матеріалу РРВ, нормальний каріотип встановлено у 1638 випадках (64,1 %), аномалії каріотипу (ХА) – у 916 (35,9 %) (табл. 1).

Таблиця 1. Цитогенетичні знахідки у матеріалі ранніх репродуктивних втрат

Каріотип	Кількість досліджень в абсолютних числах та відсотках	
	n	%
Всього	2554	100
Еуплоїдія	1638	64,1
Аномалії каріотипу	916	35,9

Згідно з опублікованими даними, найвищий відсоток ХА у матеріалі РРВ становлять аутосомні трисомії – 50–70 %, а саме трисомії по хромосомах 16, 22, 21, 15,13, 18 в порядку спадання, поліплоідії – 20–25 % та моносомії по статевих хромосомах – 10-15 % [3, 5, 9-11]. У проаналізованих зразках ВХ РРВ розподіл аномалій каріотипу наступний: аутосомні анеуплоїдії – 478 (52,2 %), поліплоїдії – 256 (27,9 %), гоносомні анеуплоїдії – 182 (19,9 %). Серед аутосомних анеуплоїдій переважала трисомія 16 (26,9 %), поліплоїдій – триплоїдія (24,6 %), гоносомних анеуплоїдій – моносомія Х (18,4 %) (табл. 2). Серед проаналізованих зразків не виявлено подвійних або потрійних трисомій, що зустрічаються у матеріалі РРВ. Це може бути пов'язано із віковою характеристикою жінок з РРВ, так як подвійні та потрійні трисомії зустрічаються з вищою частотою у матеріалі РВ від жінок старшого віку.

Діагностика анеуплоїдій у матеріалі втрачених вагітностей відіграє ключову роль у комплексі досліджень, скерованих на встановлення причини репродуктивних невдач.

Висновки

1. Проведено цитогенетичне та молекулярно-цитогенетичне дослідження 2554 зразків ВХ, геномні та чисельні хромосомні зміни виявлено в 35,9 % випадків.

2. Відхилення каріотипу у ВХ РРВ зустрічались із наступною частотою у порядку спадання: аутосомні анеуплоїдії – 52,2 %, поліплоїдії – 27,9 %, гоносомні анеуплоїдії – 19,9%.

3. Серед аутосомних анеуплоїдій переважала трисомія 16 (26,9 %), поліплоїдій – триплоїдія (24,6 %), гоносомних анеуплоїдій – моносомія Х (18,4 %).

Таблиця 2. Частота та спектр аномалій каріотипу в матеріалі ранніх репродуктивних втрат

Каріотип	Кількість досліджень в абсолютних числах та відсотках	
	n	%
триплоїдія	226	24,6
тетраплоїдія*	30	3,3
моносомія Х*	169	18,4
47,XXX*	2	0,2
47,XXY	5	0,6
47,XYY	5	0,6
48,XYYY	1	0,1
трисомія 3	1	0,1
трисомія +13/21*	87	9,5
трисомія +14/22*	47	5,1
трисомія +15*	63	6,9
трисомія +16*	246	26,9
трисомія +18	32	3,5
трисомія +20	2	0,2

Примітка: * – включають випадки з мозаїчним каріотипом.

References

1. Warburton D. Cytogenetics of reproductive wastage: from conception to birth. In Mark, H.F.L. (ed.). *Medical Cytogenetics*. 2000. P. 213–246.
2. 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. doi: 10.1016/j.bbadis.2012.07.001.
3. Goddijn M., Leschot N. J. Genetic aspects of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2000. Vol. 14 (5). P. 855–865. doi:10.1053/beog.2000.0124

4. Jurkovic D., Overton C., Bender-Atik R. Diagnosis and management of first trimester miscarriage. *BMJ*. 2013. Vol. 346. f3676. doi: 10.1136/bmj.f3676.
5. 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. doi: 10.1080/14767058.2018.1542677.
6. 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. doi: 10.1007/s10815-017-1069-1.
7. 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. doi: 10.1097/01.gim.0000160075.96707.04.
8. 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. doi: 10.1016/j.ejogrb.2009.07.023.
9. 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.
10. 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. doi: 10.1159/000477707.
11. Simpson J. L. Genetics of spontaneous abortion. W: Recurrent pregnancy loss. Causes, controversies and treatment (red. HJA Carp). *Informa Healthcare, London.* 2007. P. 23–34.
12. Kalousek D. K., Lau A. E. Pathology of spontaneous abortion. W: Developmental pathology of the embryo and fetus. Red. J. E., Dimmick D. K., Kalosuek. J B Lippincott Company, Filadelfia, 1992. *Hum Genet*. 2004. Vol. 49 (7). P. 396−397.
13. Banzai M., Sato S., Matsuda H., Kanasugi H. Trisomy 1 in a case of a missed abortion. *J Hum Genet*. 2004. Vol. 49 (7). P. 396−397.
14. Jacobs P. A., Hassold T. J. The Origin of Numerical Chromosome Abnormalities. *Advances in Genetics.* 1995. P. 101–133.
15. Griffin D. K. The Incidence, Origin, and Etiology of Aneuploidy. *International Review of Cytology*. 1996. P. 263–296.
16. Egozcue S., Blanco J., Vendrell J. M. et al. Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Hum Reprod Update.* 2000. Vol. 6 (1). P. 93–105.
17. 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. doi: 10.1186/1750-1172-5-8.
18. Tobias E. S., Connor M., Ferguson-Smith M. Essential Medical Genetics. Wiley-Blackwel. 2011. 6 th Edition. P. 332.

TKACH I. R.[1], HULEYUK N. L.[1], ZASTAVNA D. V.[1], BEZKOROVAINA G. M.[1], HELNER N. V.[1], BENKO O. V.[2]

[1] State Institution "Institute of Hereditary Pathology NAMS of Ukraine",
Ukraine, 79008, Lviv, M. Lysenko str., 31a
[2] Municipal non-profit enterprise "3rd city clinical hospital of Lviv",
Ukraine, 79000, Lviv, Rusovykh str, 4

CYTOGENETIC ANALYSIS OF 2554 SAMPLES OF THE PRODUCTS OF CONCEPTION FROM EARLY REPRODUCTIVE LOSSES

Aim. Early pregnancy losses (EPL), to some extent, can be considered a mechanism of natural selection that prevents the development of defective fetuses, since it is believed that even up to 80 % of the causes have genetic disorders. Among the genetic factors of EPL karyotype disorders should be included first of all. Overall, up to 50 % of early miscarriages are caused by karyotype abnormalities. The purpose of this study was studied the contribution of chromosomal abnormalities to the genesis of EPL. ***Methods.*** Banding cytogenetic and interphase mFISH with the centromeric probe panel for chromosomes 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, X and Y were used. ***Results.*** Were examined 2554 cases of material of early reproductive loss. A normal karyotype was established in 1638 cases (64.1 %), and a pathological karyotype in 916 (35.9 %). Karyotype abnormalities are as follows: autosomal aneuploidy – 478 (52.2 %), polyploidy – 256 (27.9 %), gonosomal aneuploidy – 182 (19.9 %). ***Conclusions.*** Among autosomal aneuploidies prevailed trisomy 16 (26.9 %), among polyploidy – triploidy (24.6 %) and among gonosomal aneuploidy – monosomy X (18.4 %).

Keywords: early reproductive loss, chorionic villi, chromosomal abnormalities.