

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРИЧИН НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ – ВЗГЛЯД АКУШЕРА-ГИНЕКОЛОГА, ПАТОМОРФОЛОГА И ЦИТОГЕНЕТИКА.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE CAUSES OF NON-DEVELOPING PREGNANCY — THE VIEW OF OBSTETRICIAN- GYNECOLOGIST, PATHOMORPHOLOGIST AND CYTOGENETICIST.

E. Palyutina
S. Tikhomirova
E. Sotina
I. Kozlovskaya

Summary. We have performed a retrospective analysis of anamnestic data of 64 patients with non-developing pregnancy between 6 and 12 weeks of gestation with the results of extension pathomorphological and cytogenetic study.

According to the results of a cytogenetic study, the chromosomal pathology has been detected in 45 (70.7%) samples. Prevailing types of disorders were trisomies 43.7% and triploidies 12.5%. According to the results of the extension pathomorphological study, the data on the chromosomal pathology have been detected in only 14 (20.3%) samples. The percentage of agreement is 33%. During the histologic study, the inflammatory process has been registered in 53% of cases. In this study pathological karyotype corresponded to a histologic pattern of inflammation in 38% of cases. In order to choose the right tactics of further treatment of patients with non-developing pregnancy, it is necessary to use at least 2 methods of study. Whenever possible they should be accompanied with molecular genetic and immunohistochemical diagnostic methods.

Keywords: non-developing pregnancy, cytogenetic study, morphological examination, karyotype.

Палютина Елена Юрьевна

К.м.н., ФГБОУ ВО «Ярославский государственный
медицинский университет» Минздрава России
peyu260562@mail.ru

Тихомирова Светлана Владиславовна

К.б.н., ФГБОУ ВО «Ярославский государственный
медицинский университет» Минздрава России;
цитогенетик ГБУЗ Ярославской области «Областной
перинатальный центр»
svetlana-yar-2010@yandex.ru

Сотина Елена Михайловна

Врач патологоанатом высшей квалификационной
категории, ГБУЗ Ярославской области «Областной
перинатальный центр»
sota.len@yandex.ru

Козловская Ирина Александровна

К.м.н., врач акушер-гинеколог ГБУЗ Ярославской
области «Областной перинатальный центр»
kia801980@mail.ru

Аннотация. Нами был проведен ретроспективный анализ анамнестических данных 64 пациенток с неразвивающейся беременностью в сроке от 6 до 12 недель гестации с результатами расширенного патоморфологического и цитогенетического исследования.

По результатам цитогенетического исследования хромосомная патология выявлена в 45 (70,7%) образцах. Преобладающим типом нарушений были трисомии 43,7%, и триплоидии 12,5%. По результатам расширенного патоморфологического исследования данные за хромосомную патологию были выявлены только в 14 (20,3%) образцах. Процент совпадений составил 33%. В 53% случаев при гистологическом исследовании регистрировался воспалительный процесс. При этом патологический кариотип соответствовал гистологической картине воспаления в 38% случаев. С целью принятия правильной тактики дальнейшего введения пациентов с неразвивающейся беременностью необходимо использовать как минимум два метода исследования. И по возможности дополнить их молекулярно-генетическими и иммуногистохимическими методами диагностики.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, цитогенетическое исследование, морфологическое исследование, кариотип.

Введение

Низкая рождаемость в России в последние годы усугубляется репродуктивными потерями, значительная часть которых приходится на неразвивающуюся беременность. Под термином «неразвивающаяся беременность» (синоним — замершая беременность) следует рассматривать остановку в развитии эмбриона/плода до 22 недель беременности при отсутствии экспульсии плодного яйца/плода. Диагностика неразвивающейся беременности основывается на результатах ультразвукового исследования. Выделяют два типа замершей беременности: анэмбрионию и раннюю гибель эмбриона (плода) [6]. Точных данных о распространённости неразвивающейся беременности нет, что связано со сложностями статистической обработки данных: в 80% всех выкидышей сначала происходит гибель плодного яйца, а затем — либо экспульсия, либо задержка в полости матки продуктов зачатия. Около 60–70% самопроизвольных прерываний гестации до 12 недель обусловлено именно замершей беременностью, а на сроках до 8 недель одна треть выкидышей происходит по типу анэмбрионии [6]. Причины гибели эмбриона, также, как и неспособность матки к его изгнанию до конца не изучены и не всегда объяснимы. Наибольший процент (75–85%) беременностей останавливается на стадии имплантации, эмбриогенеза, формирования хориона и плаценты, что делает эмбрион наиболее чувствительным к повреждающим факторам. В последних рекомендациях междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины (МАРС) за 2021 год на первом месте из факторов риска эксперты отмечают поздний репродуктивный возраст, наличие в анамнезе репродуктивных потерь, около 15% занимают инфекционные процессы [6], но большинство специалистов считают ведущей причиной нарушения развития и гибели эмбриона хромосомные и геномные мутации [5]. Так, аномальный кариотип в сроке 6–7 недель гестации имеют 60–75% эмбрионов, в 12–27 недель — 15–20%, а в 18–28 недель — только 2–7% [2, 6]. Вместе с тем неоспоримы данные, что в этиологии неразвивающейся беременности сравнительно высок удельный вес не только инфекций, в том числе и вирусных, но и эндокринные нарушения в организме матери, нарушения гемостаза и иммунные расстройства [6, 9]. Одной из важнейших практических задач современного акушерства, несмотря на множество проведенных исследований, остается выяснение причин неразвивающейся беременности — это реальный путь снижения репродуктивных потерь, а зная причины и понимая патогенез, можно более успешно проводить профилактику данного состояния до наступления следующей беременности. Изначально причину неразвивающейся беременности связывали с факторами риска, отягощенным акушерско-гинекологическим анам-

незом, уточняли исследованием аспирата из полости матки морфологическим методом, в настоящее время имеется возможность цитогенетического исследования полученного материала.

Цель проведенного исследования

Сравнительное изучение причин, частоты, спектра аномалий кариотипа при неразвивающейся беременности на основе анамнестических, цитогенетических и патоморфологических данных.

Материал и методы исследования

Произведен анализ результатов исследований кариотипа абортного материала 64 пациенток на базе областного перинатального центра города Ярославля. Критериями для постановки диагноза, являлись: отсутствие сердцебиения эмбриона; отсутствие сформированного эмбриона в полости плодного яйца — анэмбриония. В случае диагностики неразвивающейся беременности всем пациенткам проводилась вакуум-аспирация или выскабливание содержимого полости матки. Материал доставлялся в клиничко-диагностическую лабораторию перинатального центра в кратчайшие сроки после медицинского вмешательства. Препараты метафазных хромосом получали из клеток цитотрофобласта ворсинчатого хориона, «прямым» ускоренным методом по общепринятой методике [1]. Препараты анализировали с помощью микроскопа OLYMPUS BX51, оснащенного камерой, с использованием программы ВидеоТест-Карио 3.1.

При выполнении расширенного патоморфологического исследования оценивали состояние ворсинчатого хориона, париетального эндометрия и децидуальной ткани [3]. Косвенными признаками, отражающими хромосомные нарушения трофобласта в первом триместре беременности по последним данным российского клинического исследования следует считать наличие полиморфных ворсин хориона с гидрорическими изменениями гиповаскуляризированной гипоплазированной стромы, истончением хориального синцития [10].

Статистическую обработку данных выполняли с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и пакета прикладных программ Statistica for Windows v.7.0, StatSoft Inc.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования были получены следующие результаты: всего в исследовании приняло участие 64 женщины в возрасте от 22 до 47 лет (средний возраст $32 \pm 5,8$), с подтвержденным

Таблица 1. Сравнительная характеристика групп с нормальным и аномальным кариотипом

показатель	группа с эуплоидным кариотипом N=19	группа с аномальным кариотипом N=45
средний возраст	29,8±5,2 лет	31,9±6,4 лет
паритет	3,2±2,1	4,2±2,5
неразвивающаяся беременность в анамнезе	9 (47,3%)	31 (48,8%)
средний срок гестации на момент установления диагноза	7,4 недель	7,9 недель
кариотип женского пола	11 (59,1%)	24 (57,1%)
кариотип мужского пола	8 (40,9%)	21 (42,9%)
показания к кариотипированию:		
неразвивающаяся беременность	16 (86,4%)	33 (73,8%)
анэмбриония	0 (0%)	5 (11,9%)*
визуализируемые пороки развития	3 (13,6%)	7 (14,2%)

***($p < 0,001$)

диагнозом неразвивающаяся беременность, что подтверждается данными норвежского проспективного, когортного исследования национального регистра беременных (более 421 тыс. участниц) — самый низкий (10%) риск репродуктивных потерь был в возрастной группе 25–29 лет [6]. Достоверно больший процент 59 (92,2%) ($p < 0,001$) пациенток были повторнобеременные, 31–48,4% пациенток имели отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (ОАГА): от 1 до 3 замерших беременностей в анамнезе. И, как указывают эксперты, скорее всего ассоциация ОАГА и неразвивающейся беременности обусловлена сохранением причин, послуживших причинами репродуктивных потерь в прошлом, которые, что очень важно, не были выявлены и устранены [6].

Срок остановки развития беременности варьировал от 6 до 12 недель гестации (в среднем $8,7 \pm 1,8$). Следует отметить, что в достоверно большем количестве случаев 50 (78,1%) ($p < 0,001$) была диагностирована гибель эмбриона, что не противоречит данным полученными Волковым А.Н. с соавторами: это период раннего органогенеза, когда происходит закладка, выделение и формирование зачатков практически всех органов и систем, формирование плаценты [11]. Первый триместр беременности — это критический период, связанный с естественным отбором эмбрионов, в том числе и с позиции их генетической состоятельности. Следует отметить, что в достоверно большем количестве случаев — 50 (78,1%) ($p < 0,001$) была диагностирована гибель эмбриона. По результатам цитогенетического исследования 64-х образцов хориона, хромосомная патология была выявлена в 45 (70,3%) образцах, что совпадает с данными других исследований. [2] Эуплоидный кариотип встречался в 19 (29,7%) образцах. Полученные данные не противоречат результатам исследований других авторов [2,6]. А чем принципиально отличались друг от друга пациентки с эуплоидным и аномальным кариотипом хориона?

Группы сравнения достоверно не отличались ни по возрасту, ни по количеству беременностей в анамнезе, в том числе и неразвивающихся, ни по сроку гестации на момент установления диагноза, ни по количеству кариотипов мужского и женского пола. Но следует отметить, что во всех случаях анэмбрионии был выявлен аномальный кариотип.

Из 45 образцов с аномальным кариотипом анеуплоидии 28 (43,7%) образцов выявлялись достоверно чаще ($p < 0,001$), чем полиплоидии 9 (14,1%) образцов, наиболее часто лишние хромосомы встречались в 16, 15, 21 и 22 парах. В 15% случаев выявленные анеуплоидные нарушения являлись мозаичными.

При проведении корреляционного анализа была выявлена достоверная ($p < 0,05$) прямая зависимость трисомий от возраста женщины. При этом с увеличением количества беременностей возможность возникновения трисомий достоверно возрастает. Эта же закономерность прослеживается при анализе зависимости трисомий от количества неразвивающихся беременностей в анамнезе.

Следующей по частоте встречаемости аномалий кариотипа были полиплоидии 9 образцов из которых триплоидия составила 8 (12,5%) образцов и в единичном образце (1,6%) была тетраплоидия.

У 2-х пациенток с триплоидным кариотипом эмбриона был пузырный занос. Такой вид нарушения развития трофобласта встречался и в образце с эуплоидным кариотипом, в этом случае диагностика, возможного, удвоенного отцовского генома недоступна методом стандартного кариотипирования, необходимо исследование генотипа.

Моносомия по X хромосоме в нашем исследовании встретилась в 2 (3,1%) случаях. Помимо геномных были

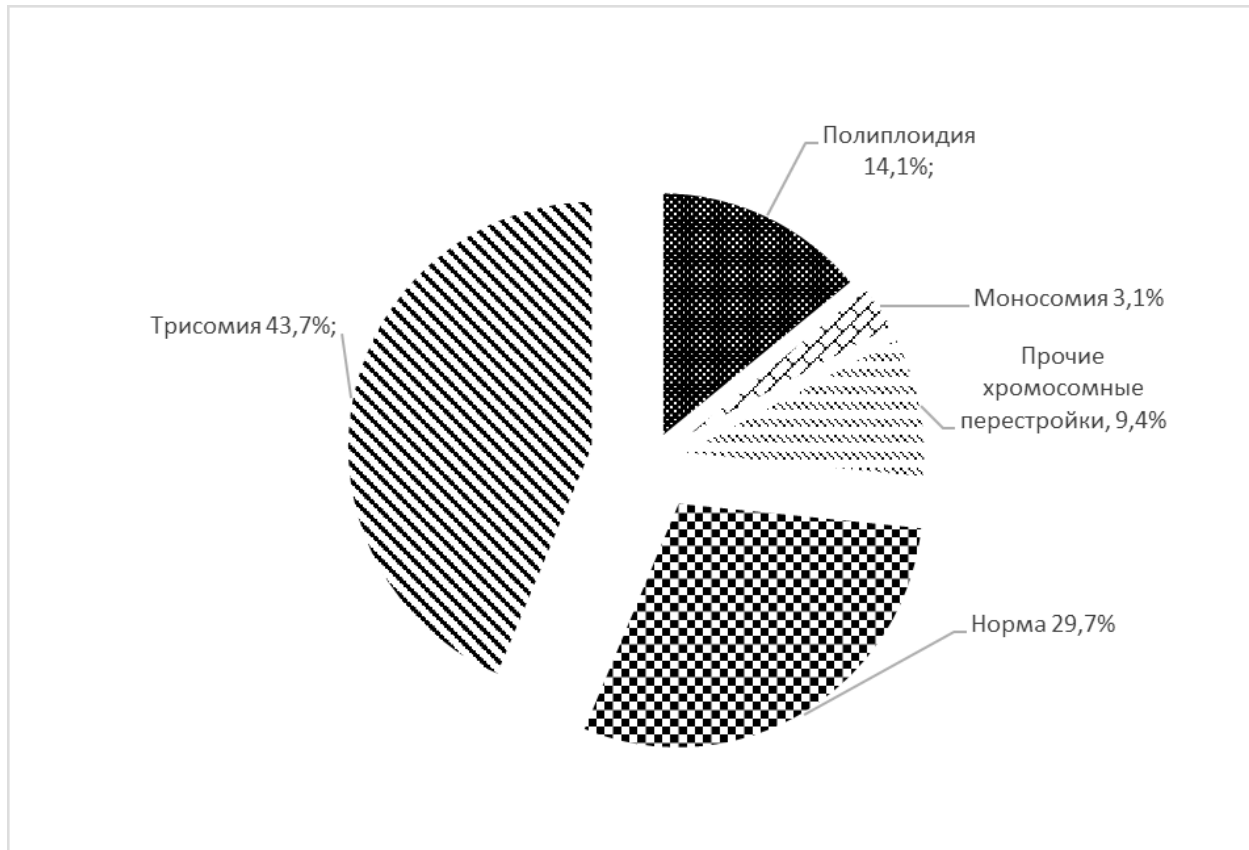


Рис. 1. Частота и спектр хромосомных аномалий кариотипа хориона при неразвивающейся беременности.

выявлены спонтанные aberrации и структурные мутации аутосом в 6 (9,4%) случаях.

По результатам расширенного патоморфологического исследования хромосомная патология была выявлена в 13 случаях (20,3%) и оценивалась по наличию гидропических, ветвящихся ворсин, отсутствию общего или локального ангиогенеза и сочетанию истончения эпителиального покрова с локальной пролиферацией цитотрофобласта. В 8 образцах (12,5%) при гистологическом исследовании были выявлены признаки гормональной недостаточности, как этиологического фактора невынашивания беременности. В 22 образцах (34,4%) присутствовала гистологическая картина воспаления. Воспалительный процесс оценивали по наличию очаговых и, или рассеянных лимфоцитарных инфильтратов с нейтрофильными элементами [7].

Чаще выраженный воспалительный процесс выявляется во всех составляющих внезародышевого комплекса, что указывает на наличие у женщин в анамнезе инфекционного агента [4]. Поэтому, на этапе прегравидарной подготовки, важно обследование супружеских пар на своевременное выявление и лечение инфек-

ций при планировании беременности. Так же отмечалось сочетание воспаления с возможной хромосомной и гормональной патологией в 8 (12,5%) и 4 (6,3%) образцах соответственно.

Результаты патоморфологического исследования представлены на рис. 2.

При сопоставлении результатов расширенного патоморфологического метода с результатами кариотипирования было выявлено, что лишь в 33% случаев аномальный кариотип плода был подтвержден гистологически. В большинстве случаев, гистологического исследования регистрировался воспалительный процесс — 53%. При этом в 38% случаев патологический кариотип соответствовал гистологической картине воспаления. То есть, значительная часть хромосомной патологии была не видна при гистологическом исследованием, но сопровождалась воспалительным процессом. Возможно, это связано с тем, что дифференциальная активность генов «лишних» хромосом и целых геномов в эмбриогенезе могла стать причиной гибели эмбриона при живом хорионе, и в дальнейшем привести к воспалению.

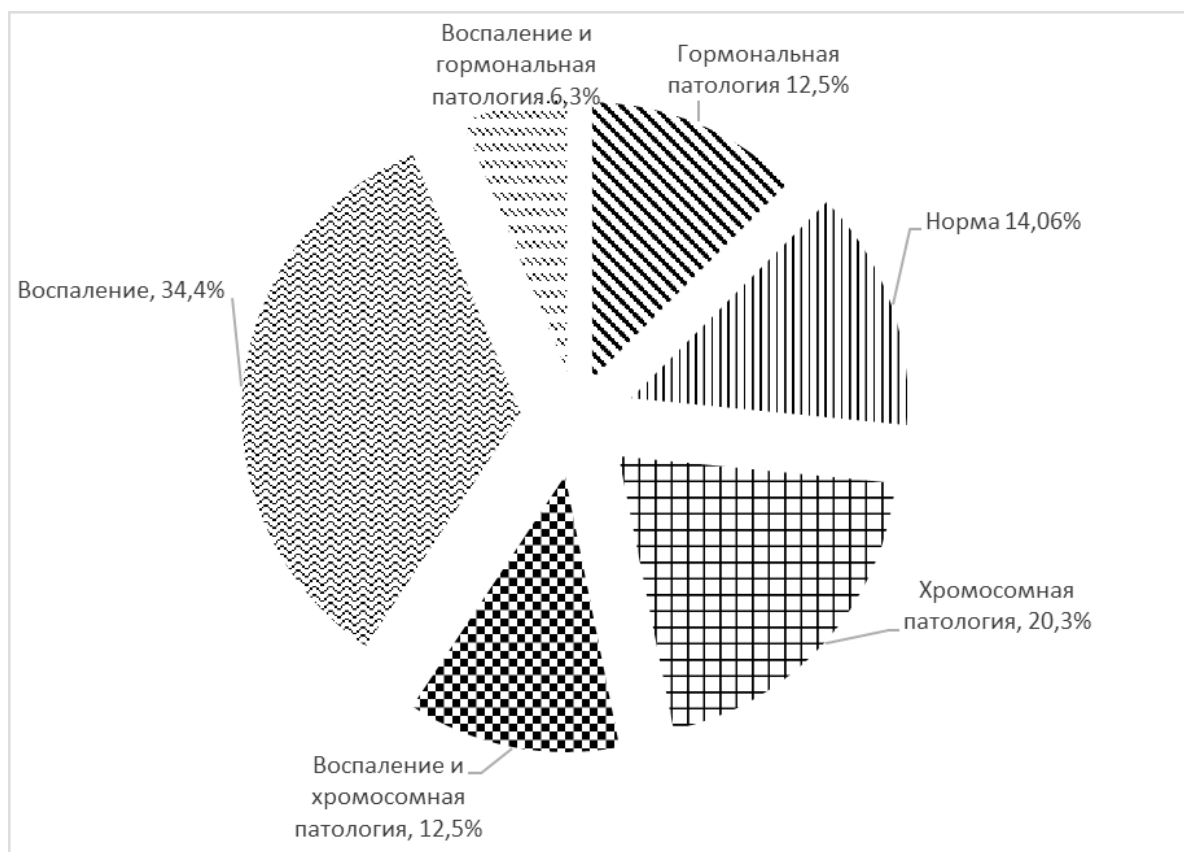


Рис. 2. Результаты расширенного патоморфологического исследования при неразвивающейся беременности.

Выводы: женщины, старше 30-ти лет, повторнобеременные, имеющие отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, имеют больший риск по неразвивающейся беременности. Хромосомным аномалиям принадлежит доминирующее значение в этиологии неразвивающейся беременности, особенно в сроке до 9 недель гестации.

Как указывают эксперты MAPC — результаты кариотипирования абортуса не определяют прогноз в отношении последующей беременности, но выяснение причины выкидыша может стать важным аргументом в пользу установления хромосомного набора. Знание этиологии репродуктивной потери имеет не только медицинское значение: устранение неизвестности крайне важно и для морально-психического состояния пары с привычным невынашиванием беременности. Однако, недостатком цитогенетического метода может быть невозможность определения кариотипа, вследствие аутолиза тканей, а эуплоидный кариотип не исключает возможности моногенных нарушений, микроструктурных перестроек хромосом и нарушения эпигенетической регуляции. Именно поэтому с целью принятия правильной тактики введения пациентов с неразвивающейся беременностью необходимо использование как

минимум двух данных методов исследования. И по возможности дополнить их молекулярно-генетическими и иммуногистохимическими методами диагностики.

А при отсутствие хромосомных нарушений в исследуемых препаратах метафазных хромосом, полученных из клеток цитотрофобласта ворсинчатого хориона, должно стать веской причиной для продолжения поиска причин неразвивающейся беременности, что естественно будет сопряжено с дополнительными обследованиями супружеской пары и, возможным лечением выявленной патологии. Для более детального выяснения причин неразвивающейся беременности создать единую анкету, отражающую не только возраст и паритет, но и весо-ростовые показатели, в том числе и соотношения объема талии к объему бедер, которое является точным показателем не только соматического здоровья, но и состояния репродуктивного эндокринологического статуса и долгосрочного риска для здоровья, и социально-экономический статус, и возможные вредности, и т.д., это может быть использовано для формирования групп риска и проведения расширенного предгравидарного обследования с последующей предгравидарной подготовкой у пациенток с проблемной репродукцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития: научно-практические аспекты. СПб: Изд-во Н-Л 2007; 164–168, 284–285, 493–499.
2. Волков А.Н., Рытенкова О.И., Бабарыкина Т.А., Лысенко Д.И. Цитогенетическая диагностика хро_мосомных аномалий при неразвивающейся беременности. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(9): 553–556. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-9-553-556>
3. Кузнецов Р.А., Перетяпко Л.П., Кулида Л.В., Рачкова О.В., Проценко Е.В., Сарыева О.П. Морфологические параметры дифференциальной диагностики эндометриальной и плацентарной недостаточности при ранних самопроизвольных абортax (усовершенствованная медицинская технология). Иваново 2009; 3–12.
4. Кушубекова А.К., Самигуллина А.Э., Бообекова А.А. Невынашивание беременности: гистологическое исследование соскобов из полости матки // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2019. — № 5. — С. 66–71.
5. Маркова Ж.Г., Мусатова Е.В., Тарлычева А.А., Шилова Н.В. Эффективная диагностика хромосомных аномалий при невынашивании беременности // Современные проблемы науки и образования. — 2016. — № 5. УДК 576.316:575.113.1
6. Неразвивающаяся беременность в анамнезе: реабилитация и подготовка к следующей гестации. Методические рекомендации Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины (МАРС) / [Коллектив авторов]. — М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2021–68 с.
7. Низяева Н.В. Гистологические критерии воспалительных изменений плодных оболочек плаценты и пуповины // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2018. — № 3. — С. 180–188;
8. Суханова Н.Н. Цитогенетические нарушения при ранней эмбриональной летальности. В сб.: Генетика человека и патология. Актуал пробл соврем цитогенет 2011; 9: 82.
9. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит: руководство. — М.: ГЭОТАР– Медиа, 2013. — 64 с.
10. Траль Т.Г., Толибова Г.Х., Сердюков С.В., Полякова В.О. Морфофункциональная оценка причин замершей беременности в первом триместре // Журнал акушерства и женских болезней. — 2013. — Т. 62. — № 3. — С. 83–87.
11. Tug E, Yirmibes Karaoguz M, Nas T. Gene Expression of the syncytin-1 and syncytin-2 genes in the trophoblastic tissue of the early pregnancy losses with normal and abnormal karyotypes. 2020 May 30;741:144533. doi: 10.1016/j.gene.2020.144533. Epub 2020 Mar 4.PMID: 32145327.

© Палютина Елена Юрьевна (reyu260562@mail.ru), Тихомирова Светлана Владиславовна (svetlana-yar-2010@yandex.ru),

Сотина Елена Михайловна (sota.len@yandex.ru), Козловская Ирина Александровна (kia801980@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»