

УДК 618.312

DOI: 10.17816/pmj37326-32

## ХРОМОСОМНЫЙ МИКРОМАТРИЧНЫЙ АНАЛИЗ МАТЕРИАЛА ПЛОДНОГО ЯЙЦА ПРИ ТРУБНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

*А.А. Олина<sup>1</sup>, Г.К. Садыкова<sup>2\*</sup>*

*<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, г. Санкт-Петербург, Россия,*

*<sup>2</sup>Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Россия*

## CHROMOSOMAL MICROARRAY ANALYSIS OF OVUM MATERIAL IN TUBAL PREGNANCY

*A.A. Olina<sup>1</sup>, G.K. Sadykova<sup>2\*</sup>*

*<sup>1</sup>Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg,*

*<sup>2</sup>E.A.Vagner Perm State Medical University, Russian Federation*

---

**Цель.** Определить значение хромосомных aberrаций при внематочной беременности. Внематочная беременность является осложнением, которое встречается примерно в 1–2 % всех беременностей и может являться причиной заболеваемости и смертности женщин фертильного возраста. Выявление потенциальных факторов риска для диагностики внематочной беременности остается актуальным, не полностью изученным вопросом.

**Материалы и методы.** Проведено поисковое описательное исследование на базе ГКБ им. М.А. Тверье г. Перми. Объектами исследования послужили 20 женщин с трубной беременностью. Все пациентки поступили в гинекологическое отделение клиники с диагнозом «прогрессирующая трубная беременность», по поводу чего выполнялась операция туботомии лапароскопическим доступом, что позволило сохранить целостность материала. Кроме традиционного гистологического исследования, во всех случаях был проведен хромосомный микроматричный анализ плодного яйца.

**Результаты.** В дополнение к рутинному гистологическому исследованию во всех анализируемых случаях проведено хромосомное микроматричное исследование материала плодного яйца. Оказалось, что

---

© Олина А.А., Садыкова Г.К., 2020

тел. +7 902 479 87 42

e-mail: gulnara-sadykova@mail.ru

[Олина А.А. – доктор медицинских наук, заместитель директора по развитию; Садыкова Г.К. (\*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии №1].

© Olina A.A., Sadykova G.K., 2020

tel. +7 902 479 87 42

e-mail: gulnara-sadykova@mail.ru

[Olina A.A. – MD, PhD, Deputy Director for Development; Sadykova G.K. (\*contact person) – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Department of Obstetrics and Gynecology №1].

в одном случае у пациентки 28 лет при трубной замершей беременности в сроке 5 недель обнаружен сложный хромосомный дисбаланс: три копии 1–6, 8–22 и X хромосом и четыре копии 7-й хромосомы, молекулярный кариотип (согласно ISCN 2016): arr(1-6,8-22,X)x3,(7)x4.

**Выводы.** Несмотря на то что генетические поломки относятся к неуправляемым факторам и напрямую воздействовать на них не представляется возможным, перспективным является поиск возможных механизмов, приводящих к ним.

**Ключевые слова.** Внематочная беременность, хромосомные аномалии, микроматричный анализ

**Objective.** To determine the significance of chromosomal aberrations in ectopic pregnancy. An ectopic pregnancy is a complication that occurs in approximately 1–2 % of all pregnancies and can cause morbidity and mortality in women of childbearing age. Identification of potential risk factors for the diagnosis of ectopic pregnancy remains an urgent, incompletely studied question.

**Materials and methods.** A descriptive exploratory study was conducted on the basis of the City Clinical Hospital named after M.A. Tverie, Perm. The objects of the study were 20 women with tubal pregnancy. All patients were admitted to the gynecological unit of the clinic with a diagnosis of “progressing tubal pregnancy”, for which tubotomy with laparoscopic access was performed that allowed to preserve the integrity of the material. Besides traditional histological study, in all cases a chromosome microarray analysis of the fetal egg was performed.

**Results.** In addition to routine histological study, in all cases of the analyzed group, a chromosome microarray analysis of the ovum material was carried out. It turned out that in one case, in a 28-year-old patient with a five-week tubal frozen pregnancy a complex chromosome imbalance was found: three copies of 1–6, 8–22 and X chromosomes and four copies of chromosome 7, molecular karyotype (according to ISCN 2016): arr (1–6. 8–22, X) x3, (7) x4.

**Conclusions.** Despite the fact that genetic breakdowns are uncontrollable factors and it is not possible to directly influence them, the search for possible mechanisms leading to them is promising.

**Key words.** Ectopic pregnancy, chromosomal abnormalities, microarray analysis.

## ВВЕДЕНИЕ

Внематочная беременность (ВБ) является осложнением, которое встречается примерно в 1–2 % всех беременностей и может являться причиной заболеваемости и смертности женщин фертильного возраста. ВБ занимает второе место в структуре острых гинекологических заболеваний и первое – среди нозологических форм, сопровождающихся внутрибрюшным кровотечением [1, 2].

Выявление потенциальных факторов риска для диагностики внематочной беременности в последние годы стало центром интенсивной дискуссии в литературе. Традиционно одной из основных причин эктопической локализации плодного яйца явля-

ется инфекционный фактор. Коллективом авторов под руководством J. Bouyer (2003) установлено, что возраст женщины старше 35 лет, курение, бесплодие в анамнезе и предшествующее использование внутриматочной контрацепции оказывают дополнительное влияние на риск возникновения ВБ [3]. Эти данные соотносятся с мнением Караг (2006), которым при проспективном наблюдении 600 женщин было установлено, что у пациенток с внематочной беременностью в анамнезе или инфекцией репродуктивной системы более вероятно развитие внематочной беременности, чем у пациенток без такого анамнеза [4], а также с отечественным клиническим протоколом «Внематочная (эктопическая) беременность.

Клинические рекомендации (протокол лечения)» [1]. Кроме того, нам встретились публикации о влиянии на степень риска ВБ дисфункции щитовидной железы, гиперпролактинемии, сахарного диабета, внутриматочных аномалий и антифосфолипидного синдрома [5–7].

Однако в доступной литературе крайне скудны данные о роли плодового фактора в генезе ВБ. Вместе с тем значение фетальных генетических нарушений определено в ситуации потерь на ранних сроках при маточной локализации плодного яйца, в том числе при привычном невынашивании. Плодовые хромосомные аномалии являются наиболее частой причиной выкидышей, особенно при выкидышах, происходящих до 10 недель беременности [8, 9].

Сравнительно недавнее появление общегеномных технологий с высоким разрешением, включая хромосомный микроматричный анализ (ХМА) и секвенирование последнего поколения (СПП), открыли новые возможности для обнаружения генетических изменений, которые слишком малы, чтобы быть обнаруженными классическим цитогенетическим методом. Как сообщается [10], при изучении более 3000 выкидышей с использованием технологии ХМА клинически значимые варианты были выявлены в 1,6 % случаев, в то время как редкие варианты неопределенной клинической значимости наблюдались в 40 %. Кроме того, есть исследования, свидетельствующие, что пораженные гены могут участвовать в различных биологических процессах, важных для эмбрионального / фетального развития и фертильности, таких как ангиогенез (фактор роста фибробластов 3 и коллагена, тип II, альфа 1) [11, 12], транспорт и обработка РНК (нуклеопорин) [12], мейоз II

(фосфолипаза CD4 и оксистеролсвязывающий белокподобный 5) [13]. Эти результаты позволяют предполагать, что не всегда ранние потери беременности относятся к так называемому генетическому сбросу, иногда хромосомные aberrации клинически реализуются раньше, в предимплантационный период и могут явиться причиной эктопической беременности.

*Цель исследования* – определить значение хромосомных aberrаций при внематочной беременности.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Проведено поисковое описательное исследование на базе ГКБ им. М.А. Тверье г. Перми. Объектами исследования послужили 20 женщин с трубной беременностью. Все пациентки поступили в гинекологическое отделение клиники с диагнозом прогрессирующей трубной беременности, по поводу чего выполнялась операция туботомии лапароскопическим доступом, что позволило сохранить целостность материала. Кроме традиционного гистологического исследования, во всех случаях был проведен хромосомный микроматричный анализ плодного яйца.

Хромосомный микроматричный анализ является сложной молекулярной технологией, позволяющей осуществить полногеномную амплификацию с последующим анализом множества отдельных фрагментов генома с применением специально подготовленной микроматрицы. Благодаря этому можно изучить всю структуру генома в одном исследовании. Для проведения хромосомного микроматричного анализа используется твердый носитель небольшого размера (микроматрица) из стекла или кремния. В определенном

порядке к нему прикреплены короткие олигонуклеотиды (8–80 нп) или фрагменты ДНК (более 100 нп). Матрицы, используемые для хромосомного микроматричного анализа, содержат до 2,7 млн специфических олигонуклеотидов. Благодаря этому получают информацию о наличии генетического материала в аналогичном количестве точек генома. За счет высокой плотности маркеров можно определить минимальные потери / увеличение генетического материала всех регионов генома.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все пациентки поступили в гинекологическое отделение с прогрессирующей маточной беременностью. Максимальный срок составил 5 недель, что позволило сохранить материал для проведения качественного исследования. Морфологические воспалительные изменения были идентифицированы только у трети пациенток (6 человек), что не подтверждает теорию о главенствующей роли инфекционного фактора в генезе ВБ. Интересно отметить, что во всех этих случаях женщины имели стаж курильщика более года, а в целом по группе курили больше половины женщин (13 человек, 65 %). Данный факт соотносится с отечественным клиническим протоколом, в котором указано, что курение повышает риск ВБ в 1,5–3,9 раза в зависимости от количества выкуриваемых в день сигарет [1].

На сегодняшний момент курение относится к одной из главных проблем репродуктивной медицины. Причем негативный эффект имеет накопительный характер, в том числе и при пассивном курении. Это выражается и в гипергомоцистеинемии, и в токсическом действии солей тяжелых

металлов (кадмий, свинец) на родительские организмы (матери и отца). Кроме того, в исследовании *in vitro* [14–16] было продемонстрировано генотоксическое действие никотина на плод. Авторы изучали влияние сульфата никотина на амниотические клетки путем разработки экспериментальной установки, состоящей из фетальных клеток, выращенных в среде, содержащей никотин (25 нг/мл), в основной группе и фетальных клеток, выращенных в контрольной среде, которая не содержала никотин. Установлена достоверная разница в развитии хромосомных aberrаций между группами. Таким образом, авторы предполагают наличие связи между пренатальным воздействием сигаретного дыма и внутриутробными анеуплоидиями. По нашему мнению, несмотря на, казалось бы, доказанное негативное влияние табака на здоровье человека, этот аспект все еще требует углубленного изучения с точки зрения понимания механизмов влияния на различные органы и системы с целью составления полноценных мероприятий по реабилитации пациентов после никотиновой зависимости.

У четверти пациенток (6 человек) была диагностирована неразвивающаяся беременность (НрБ). К сожалению, численность анализируемой группы не позволяет судить о распространенности этой патологии в структуре ВБ, но наши результаты соотносятся с данными литературы о высокой частоте НрБ среди самопроизвольных спонтанных выкидышей на ранних сроках гестации [8, 9].

В дополнение к рутинному гистологическому исследованию во всех случаях проведен хромосомный микроматричный анализ материала плодного яйца. Оказалось, что

в одном случае у пациентки в возрасте 28 лет при трубной замершей беременности в сроке 5 недель обнаружен сложный хромосомный дисбаланс: три копии 1–6, 8–22 и X хромосом и четыре копии 7-й хромосомы, молекулярный кариотип (согласно ISCN 2016):  $\text{arr}(1-6, 8-22, X)x3,(7)x4$ . Из особенностей анамнеза и соматического статуса обращает на себя внимание прежде всего курение. Интересно, что в отечественном протоколе указывается, что риск ВБ повышается при увеличении количества выкуриваемых в день сигарет [1]. В нашем случае пациентка указала на 5–10 сигарет в день. В соответствии с протоколом риск в данном случае увеличился в 1,7 раза. Согласно протоколу, возраст выступает фактором риска только если он превышает 35 лет, у нашей пациентки – 28 лет. Указаний на операции на маточных трубах, стерилизацию, ВБ в анамнезе не было. В качестве контрацепции пациентка использовала барьерный метод, бесплодие отрицает. Что касается воспалительных заболеваний органов малого таза, женщина указала хронический аднексит, однако в протоколе операции макроскопических признаков сальпингита описано не было. В данном случае мы не можем отрицать инфекционного фактора, так как, возможно, диагноз бы подтвердился при гистологическом исследовании маточной трубы, что ввиду объема операции туботомии выполнено не было. Таким образом, согласно клиническому протоколу «Внематочная (эктопическая) беременность», за счет курения и хронического аднексита риск ВБ у представленной пациентки превысил общепопуляционный в 5,1 раза. Кроме того, курение выступает возможной причиной хромосомных нарушений.

## Выводы

Несмотря на то что генетические поломки относятся к неуправляемым факторам и напрямую воздействовать на них не представляется возможным, перспективным является поиск возможных механизмов, приводящих к ним. Научно обоснованным и практически значимым является изучение так называемых управляемых причин нарушений фертильности как меры сохранения репродуктивного потенциала.

## Библиографический список

1. Внематочная (эктопическая) беременность. Клинические рекомендации (Протокол лечения). Письмо Министерства здравоохранения РФ от 6 февраля 2017 г. № 15-4/10/2-729. М. 2017.
2. National Clinical Practice Guideline the Diagnosis and Management of Ectopic Pregnancy. Institute of Obstetricians and Gynaecologists, Royal College of Physicians of Ireland and Directorate of Clinical Strategy and Programmes. Health Service Executive 2014; 3.
3. Bouyer J., Coste J., Shojaei T., Pouly J.L., Fernandez H., Gerbaud L., Job-Spira N. Risk factors for ectopic pregnancy: a comprehensive analysis based on a large case-control, population-based study in France. *Am J Epidemiol* 2003; 157 (3): 185–194.
4. Karaer A., Avsar F.A., Batioglu S. Risk factors for ectopic pregnancy: a case-control study. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2006; 46 (6): 521–527.
5. Kostev K. Data from: Risk factors for ectopic pregnancy in Germany: a retrospective study of 100,197 patients. Dryad Digital Repository 2017.
6. Farquhar C.M. Ectopic pregnancy. *Lancet* 2005; 366 (9485): 583–591.

7. *Stulberg D.B., Cain L.R., Dablquist I., Lauderdale D.S.* Ectopic pregnancy rates and racial disparities in the Medicaid population, 2004–2008. *Fertil Steril* 2014; 102 (6): 1671–1676.

8. *Romero S.T., Geiersbach K.B., Paxton C.N., Rose N.C., Schisterman E.F., Branch D.W., Silver R.M.* Differentiation of genetic abnormalities in early pregnancy loss. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45 (1): 89–94.

9. *Stephenson M., Kutteh W.* Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol* 2007; 50: 132–145.

10. *Rajcan-Separovic E., Diego-Alvarez D., Robinson W.P., Tyson C., Qiao Y., Harvard C., Fawcett C., Kalousek D., Philipp T., Somerville M.J. et al.* Identification of copy number variants in miscarriages from couples with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod (Oxford, England)* 2010; 25: 2913–2922.

11. *Bagheri H., Mercier E., Qiao Y., Stephenson M.D., Rajcan-Separovic E.* Genomic characteristics of miscarriage copy number variants. *Mol Hum Reprod* 2015; 21: 655–661.

12. *Ellard S., Kivuwa E., Turnpenny P., Stals K., Johnson M., Xie W., Caswell R., Lango Allen H.* An exome sequencing strategy to diagnose lethal autosomal recessive disorders. *Eur J Hum Genet* 2015; 23: 401–404.

13. *Filges I., Manokhina I., Penaberrera M.S., McFadden D.E., Louie K., Nosova E., Friedman J.M., Robinson W.P.* Recurrent triploidy due to a failure to complete maternal meiosis II: whole-exome sequencing reveals candidate variants. *Mol Hum Reprod* 2015; 21: 339–346.

14. *Demirban O., Demir C., Tunç E., nandıkhoğlu N., Sütcü E., Sadıkoğlu N., Özcan B.* The genotoxic effect of nicotine on chromosomes of human fetal cells: the first report described as an important study. *Inhal Toxicol* 2011; 23 (13): 829–834.

15. *Матейкович Е.А., Шевлюкова Т.П., Кукарская Е.Ю., Галиева Г.Д.* Медицинские ошибки при оказании акушерско-гинекологической помощи. Современные проблемы науки и образования 2018; 5: 196.

16. *Коваленко А.Н., Пустынников А.В., Максимова Н.А., Шевлюкова Т.П.* Современные возможности профилактики и лечения спаечной болезни органов малого таза у послеоперационных гинекологических пациентов. Университетская медицина Урала 2016; 2. 1 (4): 56–58.

## REFERENCES

1. Ectopic (ectopic) pregnancy. Clinical recommendations (treatment protocol). Pis'mo Ministerstva zdravoohraneniya RF ot 6 fevralya 2017 g. № 15-4/10/2-729. Moscow 2017 (in Russian).

2. National Clinical Practice Guideline the Diagnosis and Management of Ectopic Pregnancy. Institute of Obstetricians and Gynaecologists, Royal College of Physicians of Ireland and Directorate of Clinical Strategy and Programmes. Health Service Executive 2014; 3.

3. *Bouyer J., Coste J., Shojaei T., Pouly J.L., Fernandez H., Gerbaud L., Job-Spira N.* Risk factors for ectopic pregnancy: a comprehensive analysis based on a large case-control, population-based study in France. *Am J Epidemiol* 2003; 157(3): 185–194.

4. *Karaer A., Ausar F.A., Batioglu S.* Risk factors for ectopic pregnancy: a case-control study. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2006; 46 (6): 521–527.

5. *Kostev K.* Data from: Risk factors for ectopic pregnancy in Germany: a retrospective study of 100,197 patients. Dryad Digital Repository 2017.

6. *Farquhar C.M.* Ectopic pregnancy. *Lancet* 2005; 366 (9485): 583–591.

7. *Stulberg D.B., Cain L.R., Dablquist I., Lauderdale D.S.* Ectopic pregnancy rates and racial disparities in the Medicaid population, 2004–2008. *Fertil Steril* 2014; 102 (6): 1671–1676.
8. *Romero S.T., Geiersbach K.B., Paxton C.N., Rose N.C., Schisterman E.F., Branch D.W., Silver R.M.* Differentiation of genetic abnormalities in early pregnancy loss. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45 (1): 89–94.
9. *Stephenson M., Kutteh W.* Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol* 2007; 50: 132–145.
10. *Rajcan-Separovic E., Diego-Alvarez D., Robinson W.P., Tyson C., Qiao Y., Harvard C., Fawcett C., Kalousek D., Philipp T., Somerville M.J. et al.* Identification of copy number variants in miscarriages from couples with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod (Oxford, England)* 2010; 25: 2913–2922.
11. *Bagheri H., Mercier E., Qiao Y., Stephenson M.D., Rajcan-Separovic E.* Genomic characteristics of miscarriage copy number variants. *Mol Hum Reprod* 2015; 21: 655–661.
12. *Ellard S., Kivuva E., Turnpenny P., Stals K., Johnson M., Xie W., Caswell R., Lango Allen H.* An exome sequencing strategy to diagnose lethal autosomal recessive disorders. *Eur J Hum Genet* 2015; 23: 401–404.
13. *Filges I., Manokhina I., Penaberre-ra M.S., McFadden D.E., Louie K., Nosova E., Friedman J.M., Robinson W.P.* Recurrent triploidy due to a failure to complete maternal meiosis II: whole-exome sequencing reveals candidate variants. *Mol Hum Reprod* 2015; 21: 339–346.
14. *Demirban O., Demir C., Tunç E., nandıklioğlu N., Sütçü E., Sadıkoğlu N., Özcan B.* The genotoxic effect of nicotine on chromosomes of human fetal cells: the first report described as an important study. *Inhal Toxicol* 2011; 23 (13): 829–834.
15. *Matejkovich E.A., Shevlyukova T.P., Kukarskaya E.YU., Galieva G.D.* Medical errors in the provision of obstetric and gynecological care. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* 2018; 5: 196 (in Russian).
16. *Kovalenko A.N., Pustynnikov A.V., Maksimova N.A., Shevlyukova T.P.* Modern possibilities for the prevention and treatment of adhesive disease of the pelvic organs in postoperative gynecological patients. *Universitetskaya medicina Urala* 2016; 2 (1): 56–58 (in Russian).

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Материал поступил в редакцию 01.04.2020