

Новое в патогенетических механизмах неразвивающейся беременности

А. В. Ткаченко, Е. А. Хомич, Т. И. Костенко, И. А. Гриценко

Кафедра акушерства и гинекологии ИНМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград

РЕЗЮМЕ

Актуальность исследования обусловлена поиском прогностически значимых причин неразвивающейся беременности (НБ) и выработки адекватной профилактики выявленных нарушений. Метилентетрагидрофолатредуктаза, кодируемая геном *MTHFR*, определяет баланс производных фолиевой кислоты и гомоцистеина (ГЦ) / метионина. Полиморфные варианты генов фолатов могут приводить к избыточному накоплению ГЦ в крови и гипометилированию ДНК, что способствует увеличению репродуктивных потерь в ранние сроки гестации. Проведение периконцепционной профилактики высокими дозами фолиевой кислоты (4000 мкг) снижает уровень свободного ГЦ в крови, но эффективно только при ее начале за 3 месяца до зачатия и в ранние сроки развития эмбриона и плода (до 12 недель). На основании проведенного исследования было предложено применение фолиевой кислоты в дозе 4000 мкг в высокой группе риска по развитию НБ (беременные с гипергомоцистеинемией) за 16 недель до зачатия и 12 недель после зачатия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: неразвивающаяся беременность, кариотип, анеуплоидии, гомоцистеин, *MTHFR* 677 TT, гипергомоцистеинемия.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

New in pathogenetic mechanisms of undeveloped pregnancy

L. V. Tkachenko, E. A. Khomich, T. I. Kostenko, I. A. Gritsenko

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

SUMMARY

The relevance of the study is due to the search for prognostically significant causes of non-developing pregnancy (NP) and the development of adequate prevention of identified disorders. Methylene tetrahydrofolate reductase encoded by the *MTHFR* gene determines the balance of folic acid derivatives and homocysteine (HC) / methionine. Polymorphic variants of folate genes can lead to excessive accumulation of HC in the blood and hypomethylation of DNA, which contributes to an increase in reproductive losses in early gestation. Carrying out periconceptional prophylaxis with high doses of folic acid (4000 mcg) reduces the level of free HC in the blood, but is effective only when it begins 3 months before conception and in the early stages of embryo and fetus development (up to 12 weeks). Based on the study, it was proposed to use folic acid at a dose of 4000 mcg in a high-risk group for the development of NP (pregnant women with hyperhomocysteinemia) 16 weeks before conception and 12 weeks after conception.

KEY WORDS: undeveloped pregnancy, karyotype, aneuploidy, homocysteine, *MTHFR* 677 TT, hyperhomocysteinemia.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

В структуре ранних репродуктивных потерь одно из лидирующих мест отводится неразвивающейся беременности (НБ). Распространенность НБ составляет около 2% при одноплодных гестациях, при наличии многоплодных – вдвое выше [1, 2, 3, 4, 9]. Одной из ведущих причин неразвивающейся беременности ранних сроков принято считать генетический фактор. До 80% НБ в I триместре связано с различной геномной патологией родителей и плода [3, 13]. Точных данных о распространенности неразвивающейся беременности нет, что связано со сложностями статистической обработки данных: в 80% всех выкидышей сначала происходит гибель плодного яйца, а затем – экспульсия продуктов зачатия. Около 60–70% самопроизвольных прерываний гестации до 12 недель обусловлено замершей беременностью, а на сроке до 8 недель треть спонтанных прерываний беременности происходят по типу анэмбрионии [5, 6, 12]. Так, в первые 6–7 недель беременности аномальный кариотип находят в 60–75% случаях цитогенетического исследования абортного материала, в 12–17 недель – 20–25%, в 17–28 недель – только в 2–7% случаях.

Как правило, при развитии эмбриона мутации возникают *de novo*. Хромосомные аномалии и фрагментация дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) сперматозоидов могут препятствовать как зачатию, так и нормальному течению беременности [2, 8, 9, 10].

Для профилактики пороков развития у плода придается огромное значение применению фолатов. Фолатный цикл – это сложный процесс с участием каскада ферментативных процессов, многочисленных генов и путей, участвующих в сложных биологических реакциях. Витамин В₉ (другое название фолатов) необходим для процесса клеточного деления, и поэтому при дефиците этого микронутриента возникает гипергомоцистеинемия (ГГЦ), нарушается органогенез. Ключевой молекулой, обуславливающей патофизиологическое проявление аллельных вариантов генов фолатного цикла (*MTHFR*, *MTHFR* 677), является неметилированный ГЦ, токсичный для материнского организма и клеток плода [1, 5, 11]. Дефицит фолатов ассоциирован с ВПР, включая дефект нервной трубки (ДНТ) (*spina bifida*, анэнцефалии,

менингоцеле, менингомиелоцеле, энцефалоцеле, энцефаломиелоцеле), пороки сердечно-сосудистой системы и головного мозга (не связанные с ДНТ), аномалиями конечностей и мочевыделительной системы, расщелиной верхнего нёба, омфалоцеле, а также с синдромом Дауна. При выраженном недостатке фолатов зачатие крайне неблагоприятно и высока вероятность неблагоприятного перинатального исхода [6, 7, 8, 11, 12, 13].

Цель исследования: определить взаимосвязь неразвивающейся беременности с гипергомоцистеинемией (ГГЦ), дефицитом фолиевой кислоты и на основе выявленных механизмов усовершенствовать профилактические мероприятия.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в несколько этапов. На первом этапе были выявлены основные предполагаемые факторы риска развития неразвивающейся беременности на основе анализа 90 историй болезней гинекологических больных ВОКПЦ № 2 с НБ (основная группа). Группа контроля – это 30 беременных с нормально протекающей беременностью. Группа сравнения – 25 беременных с НБ в анамнезе и ГГЦ (при выявлении уровня ГЦ более 15 мкмоль/л в крови).

Всем пациенткам проводилась мультикомплексная оценка факторов риска возникновения НБ по данным анкетирования, УЗИ-диагностика на аппарате эксперт-класса, проводилось исследование на содержание ГЦ в крови и носительство генотипа *MTHFR 677 TT* (расчетный интервал для данной лаборатории – 3–12 мкмоль/л). Абортный материал исследовался микроскопом исследовательского уровня Axio Imager Z2 с программным обеспечением для кариотипирования, который позволяет выявлять хромосомную патологию. Хромосомы идентифицировали после дифференцированного окрашивания (QFН-метод), в некоторых случаях для молекулярно-цитогенетической диагностики мозаицизма применяли метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), основанный на использовании хромосомоспецифичных ДНК проб. При выявлении высокой концентрации ГЦ в крови (более 15 мкмоль/л) проводилось типирование полиморфизма генов *MTHFR 677 TT* с помощью метода ПЦР специфичными праймерами и электрофоретической детекцией результатов на тест-системах НПФ «Литех». При выявлении ГГЦ беременная относилась к высокой группе риска по развитию неразвивающейся беременности в последующем. В данной группе риска возникновения осложнений в следующей гестации (группа сравнения 25 беременных с НБ в анамнезе) в качестве прегравидарной подготовки применялась увеличенная доза фолатов до 4000 мкг в сутки за 3 месяца до зачатия и до 12 недель после. Для статистической обработки полученных данных использовали критерий Стьюдента (средние величины выражали как $M \pm m$) и корреляционный анализ Пирсона, если распределение было нормальным. Если распределение было ненормальным, использовали корреляцию по Спирмену.

Результаты исследования

На основании проведенных исследований был подтвержден мультифакторный генез НБ, выявлены основные этиологические факторы возникновения данной патологии [1, 2, 3, 4, 5, 7, 8] и основные этиологические факторы возникновения данной патологии. Средний возраст исследуемых равнялся $26,0 \pm 2,8$ года, из них первобеременных было 62 (55,5 % в основной) и 15 женщин (50,0 % в группе контроля), у повторно беременных имелись случаи замершей беременности в анамнезе у 16 (13,3 %) женщин в основной и у 4 (13,3 %) – в группе контроля. В основной группе проводилось цитогенетическое исследование абортного материала в 100 % случаев, аномальный кариотип обнаружен у первобеременных в 40 % случаев, при повторных НБ в анамнезе (более двух) выявляется только в 10 % случаев. Выявлено, что спорадический генез НБ у первобеременных преобладает ($p < 0,05$) над повторно беременными с двумя и более НБ беременностями в анамнезе, является практически основной причиной возникновения НБ [7, 8, 14, 15].

Почти в 50 % случаев при НБ выявлена трисомия хромосом, на втором месте – анеуплоидии. Причем с увеличением возраста матери данная патология только увеличивается (коэффициент корреляции Спирмена – 0,85). Случаи полиплоидии и моносомии X, напротив, уменьшаются с материнским возрастом (коэффициент корреляции Спирмена – 0,84). Регулярная моносомия X выявлена в 13,3 %, что согласуется по данным литературы [8, 16, 17].

Выявлено преобладание плодов женского пола (51 случай, 77,2 %) при всех хромосомных аномалиях. Остановка развития беременности при аномальном кариотипе происходит достоверно ранее ($6,2 \pm 0,8$ недели), чем при нормальном кариотипе ($8,7 \pm 1,2$ недели).

В данном исследовании проводилось обследование кариотипа у 40 % родителей, во всех случаях обнаружен нормальный кариотип. Таким образом, дорогостоящее цитогенетическое обследование родителей является дискуссионным и требует дальнейших углубленных исследований. Результаты кариотипирования абортуса не определяют прогноз в отношении последующей беременности, однако настойчивое желание пациентки выяснить причину выкидыша может стать важным аргументом в пользу установления патологического кариотипа [3, 4].

Считали необходимым обследование на ГЦ женщин в группе контроля и основной группе, а также в группе сравнения при прегравидарной подготовке. При повышении ГЦ исследовалось носительство генотипа *MTHFR 677 TT* – гетерогенное или гомозиготное носительство в основной и группе контроля.

Расчетный интервал, представленный лабораторией, соответствует 5–12 мкмоль/мл при нормальных значениях. С учетом референтных значений в исследовании выделена легкая степень ГГЦ – от 12 до 15 мкмоль/мл, средняя степень ГГЦ – от 15 до 45 мкмоль/л и высокий уровень – более 45 мкмоль/л. Средний уровень ГЦ в исследуемой группе составил $10,20 \pm 0,63$ мкмоль/л,

повышение выявлено у 35 % пациенток. В исследуемой группе мутантный аллель *MTHFR* 677T выявлен у 32 % исследуемых пациенток: у 25 % – гетерозиготное носительство мутантного гена, у 7 % – гомозиготное носительство мутантного гена.

Тяжелая степень ГГЦ отмечена у 7 % пациенток, что совпадало с гомозиготным носительством мутации гена *MTHFR*. Следует отметить, что имеется статистически достоверная связь предполагаемых факторов риска, а именно социально-биологических (курение, дефицит веса, современный образ жизни с множеством диет) и эндокринных (патология щитовидной железы, дефицит веса и [или] ожирение), с тяжелой степенью ГГЦ.

Умеренная степень ГГЦ – у 25 % пациенток, однако при этом у 6 пациенток наблюдали сочетание с гетерозиготным носительством мутации гена *MTHFR* и у 2 – с гомозиготным. Легкая степень диагностирована у 64 % пациенток, таким образом, в 96 % у женщин с НБ выявлена ГГЦ разной степени выраженности, а в контрольной группе ГГЦ выявлялась только в 5 %.

Была установлена корреляционная связь между частотой развития хромосомных аномалий в абортном материале при НБ и уровнем гипергомоцистеинемии, коэффициент корреляции Спирмена равнялся 0,84 – прямая корреляционная связь.

На основании вышеизложенного было предложено применение фолиевой кислоты в дозе 4000 мкг в группе риска по развитию НБ (средние и высокие уровни ГЦ) за 16 недель до зачатия и 12 недель – после.

В результате применения в качестве прегравидарной подготовки у 25 женщин, имеющих НБ в I триместре в анамнезе (ГГЦ была обнаружена у 19 [76,0 %] женщин, из них тяжелая – в 16,0 % случаев). В 12 недель повторно измерялся уровень гомоцистеина у женщин с прогрессирующей беременностью (24 пациентки), причем тяжелой степени гипергомоцистеинемии не было выявлено, легкая степень наблюдалась у 8 (33,3 %) женщин, а средняя – у 3 (12,0 %) пациенток. Осложнений I триместра не было выявлено у 76 % исследуемых, у 1 женщины была повторная замершая беременность в сроке 10 недель, что потребовало дальнейшего дообследования. У 24 (96 %) женщин беременность закончилась своевременными срочными родами с рождением плодов без пороков развития (преждевременных родов и развития преэклампсии не было).

Вывод

Применение фолатов в повышенной дозировке у беременных с гипергомоцистеинемией может являться одним из наиболее эффективных методов профилактики неразвивающейся беременности в ранние сроки.

Список литературы / References

1. МАРС: неразвивающаяся беременность в анамнезе: реабилитация и подготовка к следующей гестации, Status Praesens, 2021. MARS: Anamnesis of an undeveloped pregnancy: rehabilitation and preparation for the next gestation, Status Praesens, 2021.
2. Мамий Д.А., Татаркова Е.А., Туруз А.Р., Цикуниб А.А., Сахтарьек З.Н. Полиморфизмы генов фолатного цикла, ассоциированные с угрозой раннего

Таблица 1
Частота хромосомных аномалий при неразвивающейся беременности ранних сроков беременности

Форма хромосомной аномалии	Абсолютное число	Процент общего числа (n = 90)
Несбалансированные структурные перестройки	3	3,3
Трисомия хромосомы 16	6	6,7
Трисомия хромосомы 22	12	13,3
Трисомия хромосомы 7	3	3,3
Моносомия по хромосоме X	6	6,7
Полипloidия	6	6,7
Мозаичные формы анеуплоидий	9	10,0
Всего	45	50,0

Таблица 2
Применение фолиевой кислоты в дозе 4000 мг в качестве прегравидарной подготовки у женщин с неразвивающейся беременностью в анамнезе

Степень гипергомоцистеинемии	За 16 недель до беременности (n = 25)	За 16 недель до беременности (%)	12 недель беременности (n = 24)	12 недель беременности (%)
Легкая	6	24	8	33,3
Средняя	9	36	3	12,0
Тяжелая	4	16	0	0,0

прерывания беременности у жительниц Республики Адыгея. Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 4: Естественно-математические и технические науки. 2018. № 1.

- Mamiy D. D., Tatarkova E. A., Tuguz A. R., Tsikunib A. A., Sakhtariek Z. N. Polymorphisms of folate cycle genes associated with the threat of early termination of pregnancy in residents of the Republic of Adygea. Bulletin of the Adygea State University. Series 4: Natural-mathematical and technical sciences. 2018. No. 1.
3. Киселева А.Н., Бутина Е.В., Зайцева Г.А., Овчинников В.В., Игнатев С.В., Ярыгин Д.Н., Парамонов И.В. Ассоциация полиморфизма генов F2, F5, F7, F13, FGB, ITGA2, ITGB3, PAI-1, MTHFR, MTR, MTRR с нарушениями репродуктивной функции у женщин. Вятский медицинский вестник. 2017. № 2 (54). С. 24–29.
- Kiseleva A. N., Butina E. V., Zaitseva G. A., Ovchinnikov V. V., Ignatiev S. V., Yarygin D. N., Paramonov I. V. Association of polymorphism of genes F2, F5, F7, F13, FGB, ITGA2, ITGB3, PAI-1, MTHFR, MTR, MTRR with reproductive function disorders in women. Vyatka Medical Bulletin. 2017. No. 2 (54). P. 24–29.
4. Ларина Т.Н., Супрун С.В. Фолатный цикл: патогенетические механизмы осложнений беременности (литературный обзор). Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2018. № 70. С. 113–120.
- Larina T. N., Suprun S. V. Folate cycle: pathogenetic mechanisms of pregnancy complications (literary review). Bulletin of physiology and pathology of respiration. 2018. No. 70. P. 113–120.
5. Шарипова М.А., Кавракова З.Б., Гиасов Т.Ч. Оценка роли полиморфизма генов фолатного цикла при неразвивающейся беременности. Молодой исследователь. 2021. № 3. С. 326–328.
- Sharipova M. A., Kavrakova Z. B., Giasov T. Ch. Evaluation of the role of polymorphism of folate cycle genes in non-developing pregnancy. Young researcher. 2021. No. 3. P. 326–328.
6. Djurabekova S., Normukhammedova M. Non-developing pregnancy, risk factors and approaches to pre-gravid preparation. Inter Conf. 2020. N. 3 (30). P. 142–145.
7. Bohilca R. E., Mihai B. M., Munteanu O. [et al.] Early prenatal diagnosis of an atypical phenotype of sacral spina bifida. Journal of Medicine and Life. 2021. Vol. 14. No. 5. P. 716–721.
8. Плескач Е.С., Романенко Н.М. Гипергомоцистеинемия и энтеропатия в патогенезе «синдрома потери плода»: факт или фантазия? Таврический медико-биологический вестник. 2018. Т. 21. № 2–2. С. 111–116.
- Pleskach E. S., Romanenko N. M. Hyperhomocysteinemia and enteropathy in the pathogenesis of 'fetal loss syndrome': fact or fantasy? Tauride medico-biological Bulletin. 2018. Vol. 21. No. 2–2. P. 111–116.
9. Хоперская О.В., Енькова Е.В., Атыкшин Д.А. Оценка популяции децидуальных макрофагов у пациенток с неразвивающейся беременностью. Журнал анатомии и гистопатологии. 2018. Т. 7. № 3. С. 75–80.
- Khoperskaya O. V., Enkova E. V., Atiyakshin D. A. Assessment of the population of decidual macrophages in patients with undeveloped pregnancy. Journal of Anatomy and Histopathology. 2018. Vol. 7. No. 3. P. 75–80.
10. Shahroki S. Z., Kazerouni F., Ghaffari F. [et al.] The effect of A1298c polymorphism of the MTHFR gene on anti-Müllerian hormone levels: experimental and Web-based analysis. Journal of Clinical Laboratory Analysis. 2021. Vol. 35. No. 9. P. 23948.

11. Babu R., Van Dyke D.L., Bhattacharya S., Dev V.G., Liu M., Kwon M., Gu G., Koduru P., Rao N., Williamson C., Fuentes E., Fuentes S., Papa S., Koprui S., Lal V. A rapid and reliable chromosome analysis method for products of conception using interphase nuclei. *Mol Genet Genomic Med*. 2018 Mar 24.
12. D'ippolito S., Di Simone N., Orteschi D., Pomponi M.G., Genuardi M., Sisti L.G., Castellani R., Rossi E.D., Scambia G., Zolliano M. The chromosome analysis of the miscarriage tissue. Miscarried embryo/fetal crown rump length (CRL) measurement: A practical use. *PLoS One*. 2017 Jun 12; 12 (6).
13. Румянцева З.С., Люманова Э.Ю., Волоцкая Н.И., Аникин С.С. Предикторы неразвивающейся беременности и роль прегравидарной подготовки в профилактике повторных репродуктивных потерь. *Вятский медицинский вестник*. 2021. № 1 (69). С. 64–69.
Rumyantseva Z.S., Lyumanova E.Yu., Volotskaya N.I., Anikin S.S. Predictors of undeveloped pregnancy and the role of pre-pregnancy preparation in the prevention of repeated reproductive losses. *Vyatka Medical Bulletin*. 2021. No. 1 (69). P. 64–69.
14. Кохно Н.И., Самойлова Т.Е., Докучаева Ш.А. Прегравидарные прогностические критерии децидуита. *Гинекология*. 2019. Т. 21. No. 2. С. 58–65.
Kohn N.I., Samoilova T.E., Dokuchaeva Sh.A. Pregavidary prognostic criteria of deciduitis. *Gynecology*. 2019. Vol. 21. No. 2. P. 58–65.
15. Сафарова Г.А. Комплексный подход к прегравидарной подготовке женщин со sporadic случаем неразвивающейся беременности: автореферат дис. ... кандидата медицинских наук: 3.1.4. Сафарова Г.А. [Место защиты: Алтайский государственный медицинский университет]. Барнаул, 2021. 23 с.
Safarova G.A. An integrated approach to pregravidary training of women with a sporadic case of undeveloped pregnancy: abstract of the dissertation of the Candidate of Medical Sciences: 3.1.4. Safarova G.A. [Place of protection: Altai State Medical University]. Barnaul, 2021. 23 p.
16. Шостак Д.П., Пашов А.И., Стуров В.Г. Беременность и роды у женщины с наследственной дезадаптацией гемостаза. *Трудный пациент*. 2019. Т. 17. № 5. С. 26–27.
Shostak D.P., Pashov A.I., Sturov V.G. Pregnancy and childbirth in a woman with hereditary hemostasis maladaptation. *A difficult patient*. 2019. Vol. 17. No. 5. P. 26–27.
17. Zhao L., Fu J., Ding F. [et al.] IL-33 and Soluble ST2 Are Associated with Recurrent Spontaneous Abortion in Early Pregnancy. *Frontiers in Physiology*. 2021. Vol. 12. P. 789–829.

Статья поступила / Received 25.02.22
Получена после рецензирования / Revised 15.03.22
Принята в печать / Accepted 28.03.22

Сведения об авторах

Ткаченко Людмила Владимировна, д.м.н., проф., зав. кафедрой.
E-mail: tkachenko.fuv@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1935-4277
Хомич Елена Анатольевна, аспирант кафедры. E-mail: elena_homich_77@mail.ru
ORCID:0000-0002-6522-2902
Костенко Татьяна Ивановна, к.м.н., доцент кафедры. E-mail: kostenko.ti@mail.ru.
ORCID: 0000-0001-5203-3400
Гриценко Ирина Анатольевна, к.м.н., доцент кафедры.
E-mail: irina-gritsenko@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-6761-2990

Кафедра акушерства и гинекологии ИМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград

Автор для переписки: Ткаченко Людмила Владимировна.
E-mail: tkachenko.fuv@mail.ru.

About authors

Tkachenko Lyudmila V., DM Sci (habil.), professor, head of Obstetrics and Gynecology Dept. E-mail: tkachenko.fuv@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1935-4277
Khomich Elena A., postgraduate student of Obstetrics and Gynecology Dept. E-mail: elena_homich_77@mail.ru ORCID:0000-0002-6522-2902
Kostenko Tatiana I., PhD Med, associate professor at Obstetrics and Gynecology Dept. E-mail: kostenko.ti@mail.ru. ORCID: 0000-0001-5203-3400
Gritsenko Irina A., PhD Med, associate professor at Obstetrics and Gynecology Dept. E-mail: irina-gritsenko@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-6761-2990

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

Corresponding author: Tkachenko Lyudmila V. E-mail: tkachenko.fuv@mail.ru.

Для цитирования: Ткаченко Л.В., Хомич Е.А., Костенко Т.И., Гриценко И.А. Новое в патогенетических механизмах неразвивающейся беременности. *Медицинский алфавит*. 2022; (4): 19–22. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-4-19-22>.

For citation: Tkachenko L. V., Khomich E. A., Kostenko T. I., Gritsenko I. A. New in pathogenetic mechanisms of undeveloped pregnancy. *Medical alphabet*. 2022; (4): 19–22. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-4-19-22>.



Цикл научно-практических конференций «Женщина в центре Вселенной»



1 апреля

Омск
СФО (online)

19 апреля

Волгоград
ЮФО (online)

31 мая

Нижний Новгород
(offline)

17 июня

Москва и Московская область
(offline)



ФГБОУ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ
И ПЕРИНАТОЛОГИИ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА
Б.И. КУЛАКОВА ИЗ РФ

