Структура хромосомных аномалий в циклах ЭКО-ПГС*

Жигалина Д.И.¹, Скрябин Н.А.¹, Канбекова О.Р.², Марошкина А.Н.³, Чуркин Е.О.³, Лебедев И.Н.¹

- Научно-исследовательский институт медицинской генетики,
 ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»,
 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10
- 2 ОГАУЗ «Томский Областной перинатальный центр им. И.Д.Евтушенко», 634040, Томск, ул. Ивана Черных, 96/1
- 3 ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, дом 2

Актуальность: Ограниченный репродуктивный потенциал у человека и прогрессирующее ухудшение репродуктивного здоровья населения стали причиной развития вспомогательных репродуктивных технологий в последние десятилетия. С целью повышения вероятности имплантации бластоцисты, снижения частоты спонтанных абортов у семейных пар, которые имеют проблемы репродукции, в клиническую практику был введен преимплантационный генетический скрининг (ПГС). Культивирование эмбрионов человека *in vitro* в циклах экстракорпорального оплодотворении (ЭКО), а также возможность получения генетического материала при проведении ПГС позволяют оценить частоту и спектр хромосомных нарушений в бластоцистах человека.

Цель: Анализ частоты и спектра числовых хромосомных аномалий в бластоцистах, полученных в рамках циклов ЭКО-ПГС. **Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ молекулярных кариотипов 113 бластоцист, полученных в рамках циклов ЭКО-ПГС от 47 женщин. Полногеномная амплификация (ПГА) ДНК из клеток трофэктодермы проводилась с использованием набора реактивов PicoPlex (Rubicon Genomics, США). Анализ образцов ДНК, полученных после ПГА, был проведен методом микроматричной сравнительной геномной гибридизации (аСGH) с использованием микрочипа GenetiSure Pre-Screen, 8×60K (Agilent Technologies, США).

Результаты: Эффективность ПГА составила 97,3% (110/113). Сбалансированный кариотип был установлен в 31% (34/110) бластоцист. Частота бластоцист с хромосомным дисбалансом в группе женщин моложе 35 лет оказалась значимо ниже (46,9 %) по сравнению с частотой бластоцист с хромосомным дисбалансом в группе женщин старше 35 лет (81,0 %) (р < 0,001). Хромосомные аномалии были представлены анеуплоидиями (74 %), в 26 % — структурными нарушениями хромосом. Распределение анеуплоидий имело следующую структуру: трисомии аутосом составили 41 %, моносомии аутосом — 48 %, анеуплоидии половых хромосом — 7%, тетрасомии аутосом — 3 %, нуллисомии аутосом — 1 %. Наиболее часто отмечались анеуплоидии хромосом 5, 15, 16, 17, 19, 21 и 22.

Выводы: Анализ хромосомных аберраций в бластоцистах продемонстрировал высокую частоту хромосомного дисбаланса (69%) и широкий спектр как числовых, так и структурных нарушений хромосом. ПГС методом аСGH позволяет отобрать бластоцисты со сбалансированным набором хромосом. По результатам переносов бластоцист в циклах ЭКО-ПГС клиническая беременность наступила в 32% случаев.

Ключевые слова: анеуплоидия, преимплантационный генетический скрининг, аСGH, ЭКО

Для цитирования: Жигалина Д.И., Скрябин Н.А., Канбекова О.Р., Марошкина А.Н., Чуркин Е.О., Лебедев И.Н. Структура хромосомных аномалий в циклах ЭКО-ПГС. *Медицинская генетика* 2019; 18(3): 47-54.

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.03.47-54

Автор для корреспонденции: Жигалина Дарья Ивановна; **e-mail:** darya.zhigalina@medgenetics.ru **Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России. **Конфликт интересов.** Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 04.03.2019

^{*}Статья подготовлена по материалам доклада на научно-практической конференции «Новые аспекты пренатальной и преимплантационной генетической диагностики» (22 октября 2018 г., г. Томск).

Structure of chromosomal abnormalities in the cycles of IVF-PGS

Zhigalina D.I.1, Skryabin N.A.1, Kanbekova O.R.2, Maroshkina A.N.3, Churkin E.O.3, Lebedev I.N.1

- 1 Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Science Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk 634040, Russia
- 2 Tomsk Regional Perinatal center, Ivana Chernykh st., 96/1, Tomsk 634040, Russia
- Siberian State Medical University, Moskovsky tract, 2, Tomsk 634040, Russia

Introduction: Limited reproductive potential in humans and the progressive decline of the reproductive health of the population have led to the development of assisted reproductive technologies in recent decades. In order to improve pregnancy rates in couples with reproduction problems, preimplantation genetic screening was introduced into clinical practice. Cultivation of human embryos *in vitro* in *in vitro* fertilization cycles (IVF), as well as the possibility of obtaining genetic material during preimplantation genetic screening and diagnosis (PGS / PGD), allow us to estimate the frequency and spectrum of chromosomal abnormalities in human blastocysts.

Aim: Analysis of the rate and spectrum of aneuploidies in human blastocysts obtained in the IVF-PGD cycles.

Material and methods: A retrospective analysis of the molecular karyotypes of 113 blastocysts obtained in the cycles of assisted reproductive technology IVF-PGD from 47 women was carried out. The whole genomic amplification of DNA from trophectoderm cells was performed using the PicoPlex reagent kit (Rubicon Genomics, USA). Analysis of DNA samples obtained after whole genome amplification was carried out by array comparative genomic hybridization (aCGH) using a GenetiSure Pre-Screen microchip, 8×60K (Agilent Technologies, USA).

Results: The efficiency of whole genome amplification was 97.3% (110/113). A balanced karyotype was established in 31% (34/110) blastocysts. The rate of a blastocyst with chromosomal imbalance in the group of women under 35 years old was lower (46.9%) compared to the rate of blastocyst with chromosomal imbalance in the group of women over 35 years old (81.0%) (p < 0.001). 74% of the identified chromosomal abnormalities were aneuploidy, 26% — structural chromosomal abberations. The distribution of aneuploidies had the following structure: autosomal trisomies (41%), autosomal monosomies (48%), aneuploidies of sex chromosomes (7%), autosomal tetrasomies (3%), autosomal nullisomies (1%). Aneuploidies of chromosomes 5, 15, 16, 17, 19, 21 and 22 were noted with the greatest frequency.

Conclusions: Analysis of chromosomal aberrations in human embryos at the blastocyst stage showed a high frequency of chromosomal imbalance (69%) and a wide range of both numerical and structural abnormalities of chromosomes. PGS with aCGH allows the selection of blastocysts with a balanced karyotype. According to the results of blastocyst transfers in IVF-PGD cycles, clinical pregnancy occurred in 32 % of cases.

Keywords: aneuploidy, preimplantation genetic screening, aCGH, IVF

For citation: Zhigalina D.I., Skryabin N.A., Kanbekova O.R., Maroshkina A.N., Churkin E.O., Lebedev I.N. Structure of chromosomal abnormalities in the cycles of IVF-PGS. *Medicinskaya genetika* [*Medical genetics*] 2019; 18(3): 47-54 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.03. 47-54

Corresponding author: Zhiqalina Darya; e-mail: darya.zhiqalina@medgenetics.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation **Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest.

Accepted: 04.03.2019

Актуальность

граниченный репродуктивный потенциал у человека и прогрессирующее ухудшение репродуктивного здоровья населения стали причиной развития вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в последние десятилетия [1]. Известно, что вероятность беременности, завершившейся родами, у женщины не превышает 25% в пределах одного менструального цикла [2]. Значительный вклад в этиологию эмбриональной гибели вносят хромосомные нарушения. Большая часть эмбриональных потерь связана с анеуплоидиями, которые встречаются более чем у 50 % спонтанных абортусов [3]. Числовые хромосомные анома-

лии были обнаружены в 75% яйцеклеток, в 83% эмбрионов на стадии дробления и в 58% бластоцист [4]. Причиной образования эмбриональных анеуплоидий могут быть нарушения мейоза при формировании яйцеклеток и сперматозоидов у родителей, а также возникающие *de novo* ошибки сегрегации хромосом в ходе дробления эмбриона после оплодотворения.

Для решения проблемы бесплодия семейные пары нередко прибегают к ВРТ. Однако их эффективность после года лечения в среднем составляет лишь 27,4% и зависит от ряда факторов, как со стороны пациентов, так и со стороны центра, в котором проводятся

циклы ВРТ [5]. С целью повышения вероятности имплантации бластоцисты, снижения частоты спонтанных абортов у супружеских пар, имеющих проблемы репродукции, в клиническую практику был введен преимплантационный генетический скрининг (ПГС), который позволяет в группе женщин старше 35 лет на 20–30% повысить частоту наступления беременности [6]. В основе ПГС лежит идея о том, что именно анеуплоидии чаще всего являются причиной низких показателей ВРТ, поэтому отбор эмбрионов без числовых хромосомных нарушений должен привести к увеличению вероятности беременности и родов [7]. Культивирование эмбрионов человека in vitro в циклах ВРТ, а также возможность получения генетического материала при проведении ПГС позволяют проанализировать структуру хромосомных аберраций, представленных в бластоцистах человека. Таким образом, целью настоящего исследования явился анализ частоты и спектра числовых хромосомных аномалий в бластоцистах человека, полученных в рамках циклов ЭКО-ПГС.

Методы

Проведен ретроспективный анализ молекулярных кариотипов 113 бластоцист, полученных в рамках циклов ЭКО-ПГС от 47 женщин, средний возраст кото-

рых составил $35,9 \pm 4,5$ лет. У 9 семейных пар был отягощен анамнез, однако от остальных 38 семейных пар таких сведений не было получено (табл. 1).

Биопсии трофэктодермы бластоцист были проведены в ОГАУЗ «Областной перинатальный центр», г. Томск и в Центре вспомогательных репродуктивных технологий Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ), г. Томск в период с 2017 по 2018 гг. Полногеномная амплификация (ПГА) ДНК из клеток трофэктодермы проводилась с использованием набора PicoPlex (Rubicon Genomics, США) в соответствии с протоколом производителя. Анализ образцов ДНК, полученных после ПГА, был проведен методом микроматричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH) с использованием микрочипа GenetiSure Pre-Screen, 8×60K (Agilent Technologies, CIIIA) в соответствии с протоколом производителя. В качестве контрольных были использованы образцы ДНК индивида мужского пола с нормальным кариотипом (#5190-4370, Agilent Technologies, США) и индивида женского пола с нормальным кариотипом (#5190-4371, Agilent Technologies, США). Тестируемая и контрольная ДНК метились флуоресцентными красителями Су5 и Су3 в соответствии с протоколом производителя. Гибридизация проводилась при 67 °C в течение 16 часов. Сканирование микрочипов было проведено с использованием ска-

Таблица 1

Структура анализируемой выборки

Семейная пара	Анамнез	Возраст женщины	Число бластоцист
1	У супруги реципрокная транслокация 46,XX,t(2;8)(q23;p21)	29	3
2	2 неразвивающиеся беременности на раннем сроке, у супруга трансло- кация 46,XУ,t(3;7)(p21;p22)	31	6
3	97.9 (МКБ-10) женское бесплодие неуточненное, использовалась сперма донора	43	1
4	У супруга сбалансированная транслокация между 1 и 9 хромосомами	31	4
5	2 самопроизвольных прерывания на раннем сроке, 1 прерывание по медицинским показаниям, 1 неразвивающаяся беременность на 8-9 нед.	44	2
6	97.1 (МКБ-10) женское бесплодие трубного происхождения, связанное с врожденной аномалией маточных труб, трубная непроходимость, закупорка, стеноз, использовались донорские ооциты	41	2
7	97 (МКБ-10) женское бесплодие	38	3
8	У супруги сбалансированная транслокация 46,XX,t(6;12)(p22;p13), 1-я неразвивающаяся беременность, 2-я беременность прервана по медицинским показаниям, 3я — роды в 36 нед. Ребенок с частичной трисомией короткого плеча 6 хромосомы	35	8
9	2 неразвивающиеся беременности на раннем сроке после циклов ЭКО, не было естественных беременностей	38	7
10—47	Информация об анамнезе отсутствует	35,2±4,9	77
	Итого	$35,9 \pm 4,5$	113

нера «SureScan» (Agilent Technologies, США), анализ результатов — с помощью программного обеспечения «Су-toGenomics (v3.0.2.11)» (Agilent Technologies, США). Для статистической обработки результатов был использован критерий χ^2 Пирсона.

Результаты и обсуждение

В период с 2017 по 2018 гг. нами был проведен ПГС анеуплоидий в 113 бластоцистах, полученных от 47 семейных пар. Эффективность ПГА составила 97% (110/113). В трех образцах трофэктодермы ДНК после ПГА оказалась деградированной, что не позволило провести дальнейшее молекулярное кариотипирование. Среди остальных 110 бластоцист в 34 (34/110, 31%) был установлен сбалансированный молекулярный кариотип, а в 76 (76/110, 69%) был обнаружен хромосомный дисбаланс. Частота бластоцист с хромосомным дисбалансом в группе женщин моложе 35 лет (47%, 15/32) оказалась значимо ниже по сравнению с частотой бластоцист с хромосомным дисбалансом в группе женщин старше 35 лет (81 %, 47/58) (χ^2 = 11,228; p < 0,001) (табл. 2). По данным других исследователей, также использовавших метод aCGH при проведении ПГС, частота бластоцист с хромосомным дисбалансом, полученных от женщин моложе 35 лет, варьирует от 32 до 45% [8, 9]. В то же время ранее было показано, что у женщин старше 35 лет данная частота существенно выше и может достигать 79 % [9,10]. Таким образом, хромосомные аномалии вносят значительный вклад в нарушения раннего эмбрионального развития, а их частота повышается с увеличением возраста женщины [4].

Среди 176 выявленных хромосомных аберраций было обнаружено 123 (74%) анеуплоидии и 44 (26%) структурных нарушения хромосом. Числовые нарушения хромосом в 40,7% (50/123) случаев были представлены трисомиями аутосом, в 47,9% (59/123) случаев — мо-

носомиями аутосом, в 3,3% (4/123) случаев — тетрасомиями аутосом, в 0,8% (1/123) случаев — нуллисомиями аутосом и в 7,3% (9/123) — анеуплоидиями половых хромосом. Среди различных типов хромосомных нарушений в бластоцистах преобладали трисомии и моносомии. В целом нами было выявлено больше моносомий (48%), чем трисомий (41%), однако их частоты статистически значимо не различались ($\chi^2 = 1,633$; p = 0,202). В эмбрионах на преимплантационном этапе развития по сравнению со спонтанными абортусами моносомии встречаются достаточно часто, что указывает на несовместимость данного типа хромосомных аномалий и дальнейшего развития эмбрионов на ранних этапах эмбриогенеза [11]. Моносомные эмбрионы человека погибают во время или до стадии бластоцисты [12].

Анеуплоидии хромосом 5 (7%), 15 (7%), 16 (7%), 17 (9%), 19 (6%), 21 (7%) и 22 (13%) отмечались в проанализированных бластоцистах с большей частотой. В исследовании Микитенко с соавт. методом аССН была проанализирована выборка бластоцист, полученных от семейных пар с нормальным кариотипом и многократными предварительно проведенными неудачными циклами BPT ($4,3\pm0,8$ цикла), средний возраст женщин составлял 34,7±6,1 года. В этой работе наиболее часто выявлялись числовые аберрации хромосом 3, 4, 13, 16, 19 [13]. В исследовании Fragouli и Wells представлены комбинированные результаты нескольких исследований биоптатов трофэктодермы, проведенных методом метафазной сравнительной геномной гибридизации (сССН) [14]. Средний возраст женщин в этой выборке составил 38,1 лет и варьировал от 29 до 50 лет. По результатам анализа чаще всего выявлялись анеуплоидии хромосом 3, 13, 16, 17, 19, 22.

В табл. 3 представлены молекулярные кариотипы, включающие структурные хромосомные аберрации, выявленные в настоящем исследовании. В исследовании участвовало 4 семейные пары, в которых один из супру-

Таблица 2

Частота бластоцист с хромосомным дисбалансом

Исследование	Метод анализа	Частота бластоцист с хромосомным дисбалансом	Возраст женщин	
		47% (15/32)	до 35 лет	
Настоящее исследование	aCGH	81% (47/58)	старше 35 лет	
Песледование		69% (76/110)	средний возраст — 35,9 лет	
[8]	aCGH	45% (191/425)	до 35 лет	
		32% (306/966)	до 35 лет	
[9]	aCGH	44% (561/1287)	35-40 лет	
		79% (312/394)	старше 41 года	
[10]	aCGH	61% (1770/2887)	средний возраст — 38,4 лет	

гов являлся носителем сбалансированной транслокации. Среди бластоцист, полученных от данных семейных пар, 52 % (11/21) имели структурные хромосомные нарушения, непосредственной причиной которых стало наличие сбалансированной транслокации у супругов (рис. 1—4), а еще 10 % (2/21) имели структурные хромосомные перестройки, не связанные с кариотипом супругов.

Нами была получена информация о результатах переносов в рамках циклов ЭКО-ПГС 22 бластоцист со сбалансированным набором хромосом по результатам аСGH. Клиническая беременность наступила после переносов 7 бластоцист (32%) шести женщинам. Однако у двух женщин впоследствии была диагностирована неразвивающаяся беременность. Одна неразвивающаяся беременность была отмечена у женщины 40 лет без отягощенного анамнеза, вторая — у женщины 29 лет с реципрокной транслокацией 46,XX,t(2;8)(q23;p21). После переноса 15 бластоцист (68%) наступления клинической беременности зафиксировано не было. В трех се-

мейных парах один из супругов являлся носителем сбалансированной транслокации. Сбалансированная транслокация в бластоцисте не могла быть исключена при анализе биопсии трофэктодермы в связи с методическими ограничениями аССН, однако, возможно, не повлияла бы на развитие эмбриона. В то же время, бластоцисты с несбалансированными транслокациями, сформировавшимися вследствие сбалансированной транслокации у одного из супругов, по результатам aCGH были исключены из переноса в циклах ЭКО. У одной женщины анамнез был отягощен двумя неразвивающимися беременностями на раннем сроке после переноса в рамках циклов ЭКО и отсутствием естественных беременностей. Средний возраст женщин с отрицательным результатом переноса бластоцист составил 35 лет. В данную группу вошли две женщины 37 лет, две женщины 38 лет и одна женщина 46 лет. Существуют данные, свидетельствующие о низкой эффективности ПГС у женщин старше 38 лет [16]. По всей видимо-

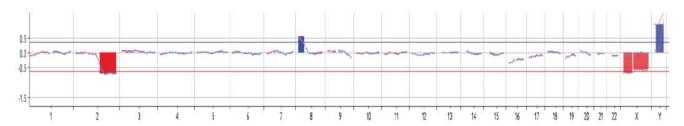


Рис. 1. Результаты молекулярного кариотипирования клеток трофэктодермы бластоцисты, полученной от семейной пары с реципрокной транслокацией 46,XX,t(2;8)(q23;p21) у супруги. Делеция длинного плеча хромосомы 2 и амплификация короткого плеча хромосомы 8 в бластоцисте.

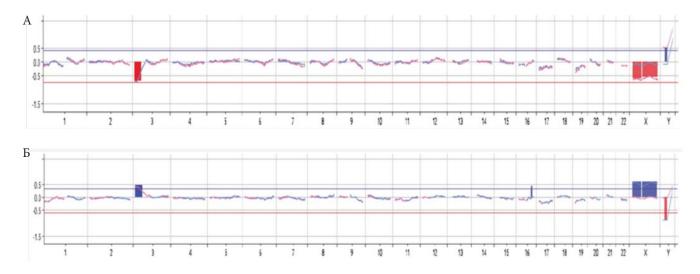


Рис. 2. Результаты молекулярного кариотипирования клеток трофэктодермы двух бластоцист, полученных от одной семейной пары с транслокацией 46,XY,t(3;7)(p21;p22) у супруга. (A) Делеция короткого плеча хромосомы 3 в бластоцисте 1. (Б) Амплификация короткого плеча хромосомы 3 в бластоцисте 2.

Таблица 3.

Структурные хромосомные аберрации в бластоцистах из циклов ЭКО-ПГС

Семейная пара (см. табл 1)	Анамнез	Возраст женщины	Стадия раз- вития бла- стоцисты	Кариотип (по ISCN 2016)
1	У супруги реципрокная транслокация $46,XX,t(2;8)(q23;p21).$	29	5AB	arr[hg19] (2q22.2q37.3)×1,(8p23.3p11.23)×3,(X,Y)×1
2	2 неразвивающиеся беременности на раннем сроке, у супруга транслокация 46,XУ,t(3;7)(p21;p22).	31	3AB	arr[hg19] (3p26.3p22.1)×1,(X,Y)×1
			4AA	arr[hg19] (3p26.3p22.1)×3,(X)×2
	У супруга сбалансированная транслока- ция между 1 и 9 хромосомами.	31	3AB	arr[hg19] (1q21.1q44)×3,(9q21.31q34.3)×1,(X,Y)×1
4			3BB	arr[hg19] (1q21.1q44)×3,(9q21.11q34.3)×1,(X)×2
			3BB	arr[hg19] (1q21.1q44)×1,(9q21.11q33.3)×3,(X)×2
5	2 самопроизвольных прерывания на ран- нем сроке, 1 прерывание по мед. показа- ниям, 1 неразвивающаяся беременность на 8-9 нед.	44	3AA	arr[hg19] (10q11.21q21.1)×3,(11,15,22)×1,(X,Y)×1
6	97.1 (<i>МКБ</i> -10) женское бесплодие трубного происхождения, связанное с врожденной аномалией маточных труб, трубная непроходимость, закупорка, стеноз, использовались донорские ооциты.	41	6BA	arr[hg19] (3p26.3p24.3)×1,(X,Y)×1
7	97 (МКБ-10) женское бесплодие.	38	4BB	arr[hg19] (5q21.2q35.3,6q16.2q26)×1,(X)×2
	У супруги сбалансированная транслокация 46,XX,t(6;12)(p22;p13), 1-я неразвивающаяся беременность, 2-я беременность прервана по медицинским показаниям, 3я — роды в 36 нед. Ребенок с частичной трисомией короткого плеча 6 хромосомы	35	4AA	arr[hg19] (6p25.3p22.3)×1,(22)×3,(X,Y)×1
			4AB	arr[hg19] (6p25.1p21.1)×3,(X)×2
8			5BA	arr[hg19] (6p25.3p22.3)×1,(X)×2
			6AB	arr[hg19] (4q26q35.1)×1,(17)×1,(X,Y)×1
			4BA	arr[hg19] (6p25.3p22.3)×3,(13)×1,(X)×2
			5BA	arr[hg19] (6p25.2p22.3)×3,(X)×2
			4BB	arr[hg19] (1q22q43)×1,(X)×2,(Y)×1
9	2 неразвивающиеся беременности на раннем сроке после циклов ЭКО, не было естественных беременностей.	38	4BB	arr[hg19] (15)×4,(3)×3, (6q14.1q27,20p13p11.23)×3, (7q22.1q36.2,Xp22.12p11.1)×1,(X)×2
10	-	-	6BA	arr[hg19] (2q34q37.3)×1,(X,Y)×1
11	-	25	4AA	arr[hg19] (1q25.1q42.13,8q13.3q24.3, 16q22.3q24.1,20p12.3p11.23)×4, (13,14)×4,(5q31.3- q35.3)×3,(6,15)×3,(X)×2,(Y)×1
			4AB	arr[hg19] (3q11.2q29,5, 6p21.31q15, 10p15.3p11.1)×3,(1,15,22)×3 (13p21.33- q33.1,16,17,21)×1,(12)×1,(X)×3
12	-	42	6BA	arr[hg19] (9q34.11q34.3)×1,(X)×2
13	-	-	3AB	arr[hg19] (9q33.3q34.3)×1,(X)×2
			4AA	arr[hg19] (7p15.3q21.4)×3,(X,Y)×1
14	-	36	5BB	arr[hg19] (2p25.1p11.2, 7p22.1p12.1,22)×1,(X,Y)×1
15	-	-	3AA	arr[hg19] (10,116p13.2p11.2)×1,(X)×2
16	-	-	4BA	arr[hg19] (17q25.2q25.3)×1,(X,Y)×1

Продолжение табл. 3 см. на стр. 53

Семейная	Анамнез	Возраст	Стадия раз-	Кариотип (по ISCN 2016)
пара		женщины	вития бла-	
(см. табл 1)			стоцисты	
17	-	38	4AA	arr[hg19] (18p11.32p11.1)×3,(3,5,6)×3,(X,Y)×1
			4AA	arr[hg19] (5q15q35.1)×1,(16)×3,(X)×2
18	-	42	4AB	arr[hg19] (6q16.1q27)×1,(X,Y)×1
19	-	42	3AA	arr[hg19] (5q11.2q35.3)×1,(X,Y)×1

Примечание. Эмбрионов на стадии бластоцисты классификацированы по Gardner, Schoolcraft, 1999 [15]. Цифра в характеристике стадии развития описывает степень зрелости бластоцисты (1 – ранняя бластоциста, 2 – средняя, 3 – полная, 4 – поздняя, 5 – бластоциста, трофэктодерма которой начинает проникать через *zonna pellucida*, 6 – бластоциста, покинувшая блестящую оболочку. Первая буква в характеристике описывает развитие внутренней клеточной массы (А – отлично, В – хорошо, С – плохо, D – дегенеративная внутренняя клеточная масса). Вторая буква характеризует трофэктодерму (А – отлично, В – хорошо, С – плохо).

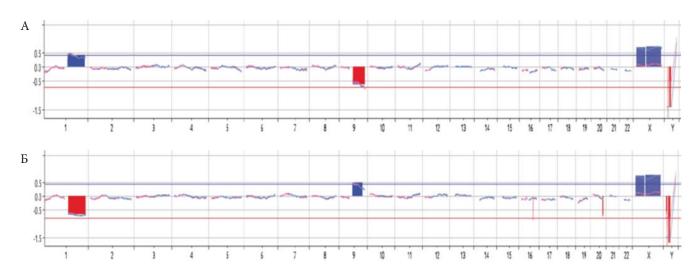


Рис. 3. Результаты молекулярного кариотипирования клеток трофэктодермы двух бластоцист, полученных от одной семейной пары со сбалансированной транслокацией между хромосомами 1 и 9 у супруга. (А) Амплификация длинного плеча хромосомы 1 и делеция длинного плеча хромосомы 9 в бластоцисте 1. (Б) Делеция длинного плеча хромосомы 1 и амплификация длинного плеча хромосомы 9 в бластоцисте 2.

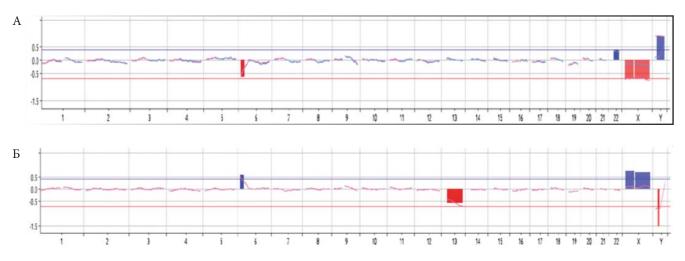


Рис. 4. Результаты молекулярного кариотипирования клеток трофэктодермы двух бластоцист, полученных от одной семейной пары со сбалансированной транслокацией 46,XX,t(6;12)(p22;p13) у супруги. (А) Делеция короткого плеча хромосомы 6 в бластоцисте 1. (Б) Амплификация короткого плеча хромосомы 6 в бластоцисте 2.

сти, помимо хороших морфологических характеристик и сбалансированного хромосомного набора бластоцисты существует ряд других факторов, определяющих вероятность имплантации и дальнейшего развития эмбриона, например, цитоплазматическое созревание и скорость метаболического обмена [17—18].

Выводы

Анализ хромосомных аберраций у эмбрионов человека на стадии бластоцисты демонстрирует высокую частоту аномальных кариотипов (69%) и широкий спектр как числовых, так и структурных нарушений хромосом. Преимплантационный генетический скрининг позволяет отобрать бластоцисты со сбалансированным набором хромосом, что особенно актуально для супругов, которые являются носителями сбалансированных транслокаций.

Список литературы

- Steptoe P.C., Edwards R.G. Birth after preimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978. 2(8085):366.
- Edmonds D.K., Lindsay K.S., Miller J.F. et al. Early embryonic mortality in women. Fertil Steril. 1982 Oct;38(4):447-453.
- 3. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития человека. Изд-во: H-Л. 2007.
- Fragouli E., Alfarawati S, Spath K. et al. The origin and impact of embryonic aneuploidy. *Hum Genet*. 2013 Sep;132(9):1001-1013.
- Van Voorhis B.J. Outcomes from assisted reproductive technology. Obstet Gynecol. 2006 Jan;107(1):183-200.
- Lee E., İllingworth P., Wilton L. et al. The clinical effectiveness of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy in all 24 chromosomes (PGD-A): systematic review. *Hum Reprod.* 2015 Feb;30(2):473-483.
- Wilton L. Preimplantation genetic diagnosis for an euploidy screening in early human embryos: a review. *Prenatal diagnosis* 2002 Jun;22(6):512-518.
- 8. Yang Z., Liu J., Collins G.S. et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. *Mol Cytogenet*. 2012 May 2;5(1):24.
- Harton G.L., Munné S., Surrey M. et al. Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. *Fertil Steril*. 2013 Dec;100(6):1695-1703.
- Coprerski B., Souza M., Rubio C. et al. Does the change of technology from acgh to NGS impact aneuploidy rates? Reprod BioMed Online. 2018 Mar;36(1):e19.
- Munné S. Chromosome abnormalities and their relationship to morphology and development of human embryos. *Reprod Biomed Online*. 2006 Feb;12(2):234-253.
- Sandalinas M., Sadowy S., Alikani M. et al. Developmental ability of chromosomally abnormal human embryos to develop to the blastocyst stage. *Hum Reprod*. 2001 Sep;16(9):1954-1958.
- Микитенко Д.А., Пилип Л.Я, Спиненко Л.А.и др. Сравнительный анализ хромосомных аномалий у преимплантац.ионных эмбрионов человека и спонтанных абортусов. Проблемы репродукции 2013;19(6):59-64.
- Fragouli E., Wells D. Aneuploidy in the human blastocyst. Cytogenet Genome Res. 2011;133(2-4):149-59.
- Gardner D.K., Schoolcraft W.B. Culture and transfer of human blastocysts. Curr Opin Obstet Gynecol. 1999 Jun;11(3):307-311.
- Hardarson T., Hanson C., Lundin K. et al. Preimplantation genetic screening in women of advanced maternal age caused a decrease in

- clinical pregnancy rate: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2008 Dec;23(12):2806-2812.
- Brison D.R., Houghton F.D., Falconer D. et al. Identification of viable embryos in IVF by non-invasive measurement of amino acid turnover. *Hum Reprod.* 2004 Oct;19(10):2319-2324.
- Seli E., Sakkas D., Scott R. et al. Noninvasive metabolomic profiling of embryo culture media using Raman and near-infrared spectroscopy correlates with reproductive potential of embryos in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2007 Nov;88(5):1350-1357.

Referenses

- Steptoe P.C., Edwards R.G. Birth after preimplantation of a human embryo. Lancet. 1978. 2(8085):366.
- Edmonds D.K., Lindsay K.S., Miller J.F. et al. Early embryonic mortality in women. Fertil Steril. 1982 Oct;38(4):447-453.
- Baranov V.S., Kuznetsova T.V. Tsitogenetika embrional'nogo razvitiya cheloveka. [Cytogenetics of human embryonic development]. Publishing house: NL. 2007 (In Rus)
- Fragouli E., Alfarawati S., Spath K. et al. The origin and impact of embryonic aneuploidy. Hum Genet. 2013 Sep;132(9):1001-1013.
- Van Voorhis B.J. Outcomes from assisted reproductive technology. Obstet Gynecol. 2006 Jan;107(1):183-200.
- Lee E., Illingworth P., Wilton L. et al. The clinical effectiveness of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy in all 24 chromosomes (PGD-A): systematic review. Hum Reprod. 2015 Feb;30(2):473-483.
- Wilton L. Preimplantation genetic diagnosis for an euploidy screening in early human embryos: a review. Prenatal diagnosis. Prenat Diagn. 2002 Jun;22(6):512-518.
- Yang Z., Liu J., Collins G.S. et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. Mol Cytogenet. 2012 May 2;5(1):24.
- 9. Harton G.L., Munné S., Surrey M. et al. Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. Fertil Steril. 2013 Dec;100(6):1695-1703.
- Coprerski B., Souza M., Rubio C. et al. Does the change of technology from acgh to NGS impact aneuploidy rates? Reprod BioMed Online. 2018 Mar;36(1):e19.
- Munné S. Chromosome abnormalities and their relationship to morphology and development of human embryos. Reprod Biomed Online. 2006 Feb;12(2):234-253.
- Sandalinas M., Sadowy S., Alikani M. et al. Developmental ability of chromosomally abnormal human embryos to develop to the blastocyst stage. Hum Reprod. 2001 Sep;16(9):1954-1958.
- Mikitenko D.A., Pilip L.L., Spinenko L.A., et al. Sravnitel'nyy analiz khromosomnykh anomaliy u preimplantatsionnykh embrionov cheloveka i spontannykh abortusov. [Comparative analysis of chromosomal abnormalities in human preimplantation embryos and spontaneous abortions]. Problemy reproduktsii. [Reproduction problems]. 2013; 19 (6): 59-64. (In Rus)
- 14. Fragouli E., Wells D. Aneuploidy in the human blastocyst. Cytogenet Genome Res. 2011;133(2-4):149-59.
- Gardner D.K., Schoolcraft W.B. Culture and transfer of human blastocysts. Curr Opin Obstet Gynecol. 1999 Jun;11(3):307-311.
- Hardarson T., Hanson C., Lundin K. et al. Preimplantation genetic screening in women of advanced maternal age caused a decrease in clinical pregnancy rate: a randomized controlled trial. Hum Reprod. 2008 Dec;23(12):2806-2812.
- Brison D.R., Houghton F.D., Falconer D. et al. Identification of viable embryos in IVF by non-invasive measurement of amino acid turnover. Hum Reprod. 2004 Oct;19(10):2319-2324.
- Seli E., Sakkas D., Scott R. et al. Noninvasive metabolomic profiling of embryo culture media using Raman and near-infrared spectroscopy correlates with reproductive potential of embryos in women undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril. 2007 Nov;88(5):1350-1357.