

УДК: 575.116.4.224:618.177+616.697

ИССЛЕДОВАНИЕ АНЕУПЛОИДИИ И ПОЛИПЛОИДИИ У ЧЕЛОВЕКА В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Ю.В.ГОНТАРЬ^{1,2}, О.Ю.ВЕРЛИНСКИЙ¹, И.Е. ИЛЬИН¹, А.М.ФЕДОТА²

¹ООО «Медицинский центр ИГР»

Украина, 03115, г. Киев, проспект Победы, 121-Б

²Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

Украина, 61022, г. Харьков, площадь Свободы, 4

e-mail: genetics-J@yandex.ru

Цель. Установить частоты анеуплоидии и полиплоидии среди сперматозоидов, доимплантационных эмбрионов, эмбрионов, остановившихся в развитии, развивающихся плодов и взрослых людей, исследованных в рамках вспомогательных репродуктивных технологий. **Методы.** Для определения хромосомного набора клеток образцов различного биологического материала применялись цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы исследования. **Результаты.** Наиболее высокая частота анеуплоидии отмечается среди доимплантационных эмбрионов (69,1 %) и среди эмбрионов, остановившихся в развитии (60,9 %). Соотношение анеуплоидии и эуплоидного набора хромосом является сходным для обоих полов у всех объектов исследования, кроме эмбрионов, остановившихся в развитии – для женского пола оно составило 1:1, для мужского – 1,8:1. Среди сперматозоидов наиболее частыми является анеуплоидия по 18-й (27 %) и половым (30,3 %) хромосомам, среди преимплантационных эмбрионов – по 13-й хромосоме (31,1 %), среди абортусов – по 18-й (40,6 %), для плодов – 21-й (72,2 %). Соотношение полов среди полиплоидных преимплантационных эмбрионов – 1:1, среди эмбрионов, остановившихся в развитии – 2,5:1 в пользу мужского пола. **Выводы.** Высокая частота анеуплоидии среди ранних эмбрионов является основной причиной нарушения имплантации, самопроизвольного прерывания беременности на различных сроках или наличия множественных пороков развития плода. Преимплантационный генетический скрининг необходим для снижения частоты хромосомных аномалий и повышения результативности вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: хромосомные аномалии, анеуплоидия, полиплоидия, кариотип, преимплантационный генетический скрининг.

Введение. Осведомлённость человека об особенностях своего кариотипа и генотипа, наличие генетического паспорта [1] является основой выбора образа жизни и деятельности, и, безусловно, создает основы личной генетической безопасности человека. Серьёзную угрозу генетической безопасности населения могут создавать как изменения генетической структуры популяции [2], так и загрязнение окружающей среды генотоксическими агентами различной природы, приводящее к ускорению темпов мутационного процесса и увеличению генетического груза в потомстве [3–6]. В связи с этим при расчётах величин генетического риска, на результатах которых могут планироваться лечебно-профилактические, реабилитационные, просветительские, социальные стратегии, возникает необходимость получения научных данных о состоянии здоровья населения нашей страны. Это делает актуальным и первоочередным при реализации программ, касающихся охраны здоровья нации, изучение репродуктивного потенциала населения.

Обычно в человеческих популяциях частота хромосомных аномалий составляет 0,5–3,0 %, в то время как среди пациентов с бесплодием, даже, не смотря на отсутствие клинической картины, доля лиц с хромосомными нарушениями колеблется от 4,3 до 9,6 % [7].

© Ю.В.ГОНТАРЬ, О.Ю.ВЕРЛИНСКИЙ, И.Е. ИЛЬИН, А.М.ФЕДОТА, 2016

В группе пациентов – кандидатов на оплодотворение *in vitro* методом ICSI, этот показатель достигает 13,1 % [8, 9]. Зачастую причиной нарушения имплантации, спонтанных абортс или множественных пороков развития плода являются количественные хромосомные аномалии, возникающие на различных стадиях развития гамет и эмбрионов вследствие сбоя мейотического деления, аномального кроссинговера, диспермии, нарушения первых митотических делений, возникновения мозаицизма на этапе митотического деления эмбриона [1, 10–12].

По данным ВОЗ, число пар, которые не могут зачать ребенка без применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), в мире составляет около 17,5 %. [13]. Соответственно, число программ лечения бесплодия с применением ВРТ имеет стойкую тенденцию к увеличению. Так, в Украине в 2006 году проведено 5416 программ, а в 2012 году – 12511 циклов ВРТ [14]. Молекулярно-цитогенетические и цитогенетические исследования являются основой для развития и повышения результативности ВРТ [15–17]. В связи с этим представляет интерес установление частоты анеуплоидий и полиплоидий среди сперматозоидов, доимплантационных эмбрионов, эмбрионов, остановившихся в развитии, развивающихся плодов и взрослых людей, исследованных в рамках ВРТ, что и стало целью данной работы.

Материалы и методы

В рамках данного исследования количество проанализированных образцов составило 8763. Исследовались следующие биологические образцы: нативный эякулят, I и II полярные тельца, 3-суточные доимплантационные эмбрионы, эмбрионы, остановившиеся в развитии (абортусы) на 6–11 неделях гестации, развивающиеся плоды на 16–21 неделях гестации, взрослые люди в возрасте от 16 до 71 лет. Исследования проведены с соблюдением биоэтических норм и в соответствии с требованиями действующего законодательства.

Цитогенетические методы применялись для анализа хромосом культивированных лимфоцитов периферической крови, культивированных клеток амниотической жидкости, клеток ворсин хориона с предварительным культивированием и без культивирования. Окрашивание цитогенетических

препаратов проводилось методами GTG (G-метод) и CBG (C-метод) [18, 19]. Молекулярно-цитогенетический метод FISH (fluorescence in situ hybridization) использовался для исследования клеток нативной амниотической жидкости, ворсин хориона, лимфоцитов периферической крови, сперматозоидов с предварительной деконденсацией их хроматина, полярных телец, преимплантационной генетической диагностики (ПГД) на blastomeres [20].

Проверку распределения количественных дат на соответствие закону нормального распределения проводили методами Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Исследование связей между признаками проводили методом корреляционного анализа по Пирсону и по Спирмену. Статистические гипотезы проверялись с помощью критериев t , χ^2 на уровнях значимости $p < 0,05$, $< 0,01$, $< 0,001$ [21].

Создание баз данных и проведение расчетов выполнено с помощью пакета программ «Microsoft Excel» операционной системы Windows XP Professional 1–2 CPU («Microsoft», США, лицензия № X08-73060, ООО «Медицинский центр ИГР»). Для обработки изображений цитогенетических препаратов применяли программное обеспечение компании «MetaSystems» (Германия, лицензия № ISS-0299, ООО «Медицинский центр ИГР»). Для цитогенетических исследований использовалась программа «Ikaros», для молекулярно-цитогенетических исследований с применением флуоресценции – программа «Isis».

Результаты и обсуждение

Результаты анализа показали, что наиболее высокая частота анеуплоидии отмечается среди доимплантационных эмбрионов (69,1 %) и среди эмбрионов, остановившихся в развитии (60,9 %). Соотношение анеуплоидного и эуплоидного набора хромосом сопоставимо для обоих полов для всех объектов исследования, кроме эмбрионов, остановившихся в развитии – для женского пола это соотношение составило 1:1 (98:73), для мужского – 1,8:1 (101:55, $p = 0,0002$) (табл. 1). В то же время, соотношение полов среди анеуплоидных образцов на всех этапах было сопоставимым.

Анализ рядов распределения различных хромосомных аномалий, выявленных при исследовании 523 образцов амниотической жидкости, по

Таблица 1. Характеристика хромосомных наборов разных объектов исследования

Пол	Хромосомный набор	Ранний эмбрион		Абортус		Плод		Взрослый человек		Всего	
		п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
Жен.	Анеуплоидный	782	69,4	98	57,3	15	6,8	5	0,2	662	18,1
	Эуплоидный	345	30,6	73	42,7	207	93,2	2420	99,8	2989	81,9
Муж.	Анеуплоидный	784	68,7	101	64,7	22	7,7	12	0,6	666	20,3
	Эуплоидный	357	31,3	55	35,3	265	92,3	1991	99,4	2608	79,7
Всего	Анеуплоидный	1566	69,1	199	60,9	37	7,3	17	0,4	1328	19,2
	Эуплоидный	702	30,9	128	39,1	472	92,7	4411	99,6	5597	80,8

Примечания: п – количество; % – доля; муж. – мужской пол; жен. – женский пол.

полу показал значимую разницу между полами – 1,4:1 (38М:28Ж, $p=0,003$) в пользу мужского пола (табл. 2).

В похожем исследовании американские учёные [22] определили как анеуплоидные около 3,5 % образцов из всех, полученных после проведенных амниоцентезов, и отметили сдвиг в соотношении полов в сторону мужского пола, что сходно с нашими результатами. Известно [23–25], что эмбриональное развитие организмов мужского пола происходит быстрее, чем женского. В связи с этим, возможно, плоды мужского пола могут не вписываться в установленные критерии оценки нормального развития при скрининговых исследованиях.

Доля анеуплоидных образцов при исследовании клеток амниотической жидкости в нашей работе в 2 раза выше, чем у американских коллег, что, вероятно, связано с различием в организа-

ции медицинских программ для населения США и Украины. В Украине инвазивные пренатальные процедуры обычно проходят беременные, имеющие исключительно высокий риск хромосомной патологии плода, в то время как в европейских странах и США биопсию ворсин хориона и амниоцентез выполняют и тем женщинам, для которых риск хромосомной патологии плода оценивается как средний.

Изучение анеуплоидии по отдельным хромосомам (13, 18, 21, и X/Y) и их группам на разных этапах исследования показало, что как для сперматозоидов, так и для преимплантационных эмбрионов соотношение анеуплоидии по анализируемым хромосомам сопоставимо – 1:1:1:1 ($p>0,05$).

Результаты нашего исследования показали, что для сперматозоидов характерны прямые связи доли хромосом 18 и X/Y и общего числа анеуплоидий ($r=0,83$, $p=0,01$ и $r=0,88$, $p=0,003$). Наиболь-

Таблица 2. Структура хромосомных аномалий, выявленных при исследовании клеток амниотической жидкости

Хромосомное нарушение	Проанализированные образцы		Пол	
	п	%	Муж.	Жен.
Трисомия 21	26	5,0	15	11
Трисомия 18	6	1,2	4	2
Трисомия 13	1	0,2	1	0
Триплоидия	2	0,4	0	2
Мозаицизм по половым хромосомам	3	0,6	1	2
Инверсия хромосомы 9	11	2,1	4	7
Инверсии других хромосом	3	0,6	3	0
Транслокации	5	1,0	2	3
Гетерохроматиновые варианты	10	1,9	7	3
Микроделеционные синдромы	4	0,8	0	4
Маркерная хромосома	1	0,2	1	0
Без роста культуры	12	2,3	-	-
Всего	84	16,1	38	28

Примечания: п – количество; % – доля от всех проанализированных образцов после проведенных амниоцентезов; муж. – мужской пол; жен. – женский пол.

Таблица 3. Распределение анеуплоидии по отдельным хромосомам у разных объектов исследования, %, n

Объект исследования	Анеуплоидии по хромосомам								Всего	
	13		18		21		X/Y			
	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n
Сперматозоиды	20,0	–	27,0	–	22,7	–	30,3	–	100,0	–
Преимплантационные эмбрионы (3и сутки после оплодотворения)	31,1	389	22,9	286	25,1	314	20,9	262	100,0	1251
Эмбрионы, остановившиеся в развитии (6–11-я недели гестации)	23,4	15	40,6	26	9,4	6	26,6	17	100,0	64
Плоды (16–21-я недели гестации)	2,8	1	16,7	6	72,2	26	8,3	3	100,0	36
Взрослые люди	0,0	0	0,0	0	58,8	10	41,2	7	100,0	17

Примечания: % – доля, n – количество.

шая доля анеуплоидии для сперматозоидов приходится на половые хромосомы, 30,3 % (табл. 3). По данным ряда авторов, отцовский вклад в анеуплоидию более существенен для анеуплоидий по половым хромосомам – 84 % мужчин с кариотипом 47,XYX имеют хромосомную аномалию в результате отцовского нерасхождения в мейозе II; в 50 % случаев синдрома Клайнфельтера являются результатом отцовской ошибки мейоза I; 80 % случаев синдрома Тернера происходят из-за потери отцовской половой хромосомы [26–28]. В случаях синдрома Клайнфельтера, возникшего из-за анеуплоидного сперматозоида, наблюдался ещё и отцовский эффект возраста [29–30].

Для преимплантационных эмбрионов наибольшая доля анеуплоидии приходится на хромосому 13, например, доля анеуплоидии по ней (31,1 %) статистически значимо выше доли анеуплоидии по хромосоме 21 (25,1 %) ($p < 0,001$) (табл. 3). Соотношение долей анеуплоидий по хромосомам 13, 16, 18, 21, 22 и X/Y является равномерным ($p = 0,362$). Минимальный вклад хромосомы 16 обусловлен несовместимостью трисомии по 16-й хромосоме даже с ранними стадиями эмбрионального развития. Неравномерность вклада отдельных хромосом и хромосомных наборов в распознаваемую утрату зигот [31], эмбрионов и плодов, вероятно, связана с разной степенью тяжести фенотипических аномалий при реализации их генетического

потенциала и, соответственно, с разным временем их элиминации.

Обычно возникновение анеуплоидии в эмбрионах списывают на хромосомные ошибки во время мейотических делений ооцита, что особенно часто случается с увеличением возраста женщины [32]. Отцовский вклад в анеуплоидию всегда считался низким, а влияние отцовского возраста на возникновение трисомий было предметом спора. По данным литературы [33], молекулярный анализ биологических образцов с трисомией показал, что 10–30 % аутомсомных трисомий возникают из-за отцовской половой клетки, несущей ошибки второго деления мейоза, при этом отмечены анеуплоидии по хромосомам 13, 14, 15, 21 и 22. Было показано также, что дополнительная хромосома 21 имела отцовское происхождение в 5 % случаев, при этом в 60 % случаев это было следствием ошибки мейоза II с вероятным эффектом отцовского возраста.

По нашим данным, анеуплоидии по 13-й, 18-й, 21-й хромосомам чаще обусловлены нарушением расхождения хромосом во время мейоза I, анеуплоидии по 16-й, 22-й хромосомам чаще связаны с нарушениями мейоза II ($p < 0,001$) (табл. 4).

Вышеизложенное является еще одним аргументом в пользу проведения превентивных исследований хромосомного набора яйцеклеток и эмбрионов у возрастных пар с целью отсева анеуплоидных вариантов.

Таблица 4. Распределение нерасхождений по отдельным хромосомам на разных этапах мейоза

Нарушение этапа расхождения хромосом	Анеуплоидия по хромосомам, %				
	13	16	18	21	22
Мейоз I	40,1	32,0	48,3	41,4	34,3
Мейоз II	36,3	44,4	34,6	36,7	41,5
Мейоз I и мейоз II	23,6	23,6	17,1	21,9	24,2

Для эмбрионов, остановившихся в развитии на 6–11 неделях гестации, и внутриутробных плодов на 16–21 неделях гестации, распределение анеуплоидии по отдельным хромосомам значительно отличается от равномерного ($p=0,0002$). Для абортусов наиболее частой оказалась анеуплоидия по хромосоме 18, например, доля анеуплоидии по ней (40,6 %) статистически значительно выше доли анеуплоидий по хромосоме 13 (23,4 %) ($p<0,05$) (табл. 3).

Ф. Фогель, А. Мотульски [31] приводят данные о проведении исследования 3714 спонтанных абортусов, среди хромосомных аномалий у которых более половины оказались представлены трисомиями, около 20 % – моносомиями, 18 % – полиплоидиями, 3 % – структурными нарушениями. С представленными данными согласуются полученные нами результаты, согласно которым анеуплоидии составили 82,7 % (129), полиплоидии – 12,8 % (20), структурные нарушения – 4,5 % (7) от всех выявленных хромосомных аномалий у абортусов. По данным другого масштабного исследования [31], при изучении 941 одноплодного абортуса одна восьмая часть аномалий оказалась представлена полиплоидами, в половине случаев выявлены первичные аутосомные трисомии, около четверти абортусов были X-моносомиками. Дополнительные хромосомы 21 и 22 встречались примерно в 10 % случаев всех трисомий. Распределение выявленных другими авторами аномалий по группам

хромосом ($n=183$) и собственные результаты представлены в таблице 5.

Наиболее часто выявляемой на 16–21 неделях гестации хромосомной аномалией в нашем исследовании является трисомия по 21-й хромосоме, которая с одинаковой частотой встречается во всех человеческих популяциях и не зависит от социального статуса или национальности [34]. Этот факт может быть связан с тем, что, согласно результатам молекулярно-генетического анализа линий стволовых клеток, полученных из анеуплоидных эмбрионов [35], работа генетического аппарата клеток с трисомией 21 максимально приближена к функционированию клеток с нормальным хромосомным набором. В связи с этим эмбрионы с трисомией 21 чаще других анеуплоидных вариантов имплантируются в полости матки, избегая отторжения плодного яйца, и развиваются дальше.

Не менее важным является исследование полиплоидных вариантов кариотипов на различных этапах развития человека. Всего нами изучено 324 полиплоидных образца, большую часть которых составили ранние эмбрионы ($n = 294$), а также абортусы ($n = 28$) и плоды ($n = 2$) (табл. 6).

На этапе преимплантационного эмбриона соотношение полов среди полиплоидных образцов составило 1:1 (162 М:132 Ж), тогда как среди образцов абортивного материала (6–11-я недели) – 2,5:1 (20 М:8 Ж, $p = 0,02$) в пользу мужского пола. Вероятно, полиплоиды женского пола абортируются на более поздних этапах развития, так как на

Таблица 5. Распределение анеуплоидии в абортивном материале по группам хромосом, установленных при стандартном цитогенетическом анализе

Показатели аутосомных анеуплоидий в абортивном материале	Группа хромосом							
	A	B	C	D	E	F	G	Всего
Количество образцов, n	4	2	40	21	26	9	27	129
Частота образцов, %	3,1	1,6	31,0	16,2	20,2	7,0	20,9	100
Частота образцов, % [31]	5,6	1,9	11,7	18,9	37,7	1,9	22,3	100

Таблица 6. Распределение полиплоидии у разных объектов исследования

Объект	Всего, n	Муж.		Жен.	
		n	%	n	%
Преимплантационные эмбрионы (3-и сутки после оплодотворения)	294	162	55,1	132	44,9
Абортусы (6–11-я недели гестации)	28	20	71,4	8	28,6
Плоды (16–21-я недели гестации)	2	0	0,0	2	100,0
Взрослые люди	нет живорождённых				

Примечания: n – количество; % – доля; муж. – мужской пол; жен. – женский пол.

16–21-й неделях гестации обнаружены полиплоиды только женского пола ($n = 2$) (табл. 6). Наши результаты сходны с данными российских авторов, в исследовании которых регулярная форма триплоидии наблюдалась в два раза чаще у спонтанных абортусов мужского пола, чем у женского [36]. По данным E. V. Hook et al., частотой триплоидий считается 1–2 % среди клинически установленных беременностей, при этом $\frac{2}{3}$ самопроизвольно прерываются до 15-й недели гестации [37]. В литературе приводится частота полиплоидии – 1,34/10 000 рождений, и обсуждается ранняя потеря плодов с полиплоидным кариотипом [38]. Масштабное европейское исследование определяет частоту триплоидии – 1,26/10 000 рождений, из которых 92 % случаев были выявлены пренатально, и в то же время около 5 % таких младенцев были живы при рождении. При этом связи возникновения анеуплоидии с увеличением возраста матери исследователями выявлено не было [39].

Представленные в работе результаты могут быть использованы в клинической практике для выбора тактики лечения нарушений фертильности и снижения вероятности нежелательных исходов беременности.

Выводы

Высокая частота анеуплоидии среди ранних эмбрионов является основной причиной нарушения имплантации, самопроизвольного прерывания беременности на различных сроках или наличия множественных пороков развития плода. Неравномерность вклада отдельных хромосом и хромосомных наборов в распознаваемую утрату зигот, эмбрионов и плодов может быть связана с разной степенью тяжести фенотипических аномалий при реализации их генетического потенциала, и соответственно, с разным временем их элиминации. Преимплантационный генетический скрининг необходим для снижения частоты хромосомных аномалий и повышения результативности программ вспомогательных репродуктивных технологий.

Список литературы

1. *Генетический паспорт* – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В. С. Баранова. – СПб.: Н-Л, 2009. – 528 с.
2. Курбатова О. Л. Этнодемографические процессы и экологическая ситуация в Москве в свете проблемы генетической безопасности населения // *Безопасность России: правовые, со-*

циально-экономические и научно-технические аспекты. Безопасность и устойчивое развитие крупных городов. – М.: МГФ «Знание», 1998. – С. 311–335.

3. Поканевич Т. М. Чинники ризику формування вроджених вад розвитку серед новонароджених (за даними генетичного моніторингу населення Київської області): дис. канд. мед. наук : 03.00.15. – К., 2003. – 148 с.
4. Неумержицька Л. В., Бариляк І. Р., Шкарупа В. М. Частота вроджених вад розвитку в радіоактивно забруднених регіонах України // *Фактори експерим. еволюції організмів.* – К.: Логос, 2007. – Т. 1. – С. 486–499.
5. Дьоміна Е. А., Бариляк І. Р. Медико-генетичні наслідки радіаційних аварій // *Цитологія та генетика.* – 2010. – Т. 44, № 3. – С. 73–81.
6. Пілінська М.А., Дибський С.С., Дибська О.Б. і др. Радіаційно-індукована модифікація чутливості хромосом соматичних клітин людини до тестуючої мутагенної дії блеомицину *in vitro* // *Цитологія та генетика.* – 2010. – № 2. – С. 58–64.
7. Chantot-Bastarud S., Ravel C., Siffroi J.P. Underlying karyotype abnormalities in IVF/ICSI patients // *Reprod Biomed Online.* – 2008. – Vol.16, No. 4 – P. 514–522.
8. Machiela M.J., Zhou W., Sampson J.N. et. al. Characterization of large structural genetic mosaicism in human autosomes // *The Am. Jour. of Hum. Genet.* – 2015. – Vol. 96, No. 3. – P. 487–497.
9. Radojčić B.A. Chromosome studies in patients with defective reproductive success // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2000. – Vol. 44, No. 5. – P. 279–283.
10. Pagter M.S., van Roosmalen M. J., Baas A. F. Chromothripsis in healthy individuals affects multiple protein-coding genes and can result in severe congenital abnormalities in offspring // *ASHG.* – 2015. – Vol. 96, Is. 4. – P. 651–656.
11. Martin C.L., Ledbetter D.H. Molecular cytogenetic analysis of telomere rearrangements // *Curr. Protoc. Hum. Genet.* – 2015. – 84: 8.11.1–8.11.15.
12. Rajcan-Separovic E., Diego-Alvarez D., Robinson W.P. et. al. Identification of copy number variants in miscarriages from couples with idiopathic recurrent pregnancy loss // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25, No. 11. – P. 2913–2922.
13. *Reproductive health strategy to accelerate progress towards the attainment of international development goals and targets.* – Geneva: WHO, 2004. – 36 p.
14. Юзько А.М., Руденко Н.Г. Лечение бесплодия с использованием вспомогательных репродуктивных технологий в Украине // *Здоровье женщины.* – 2014. – № 3. – С. 153–157.
15. Carp H., Feldman B., Oelsner G. et. al. Parental karyotype and subsequent live births in recurrent miscarriage // *Fertil Steril.* – 2004. – Vol. 81, No. 5. – P. 1296–1301.
16. Huang A., Adusumalli J., Patel S, et. al. Prevalence of chromosomal mosaicism in pregnancies from couples with infertility // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol. 91, No. 6. – P. 2355–2360.
17. Grunfeld L., Sandler B., Mukherjee T. et. al. Parental karyotype may reveal the source of a pregnancy loss even in the presence of a reportedly euploid fetal karyotype // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 95, No. 3. – P. 1120. e9–10.
18. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н. Хромосомные синдромы и аномалии. – Ростов-на Дону, 1999. – С. 155–156.
19. Зерова-Любимова Т.Е., Горovenko Н.Г. Стандарты анализа препаратов хромосом человека (методические рекомендации). – К., 2003. – С. 10.
20. Thornhill A.R., deDie-Smulders C.E., Geraedts J.P. et. al. Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis

- (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS) // Human Reproduction. – Vol. 20, No. 1. – 2005. – P. 35–48.
21. Атраментова Л. О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології. – Харків, 2007. – 288 с.
 22. Orzacka S.H., Stubblefield J.W., Aktaev V.R. et al. The human sex ratio from conception to birth // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 2015. – Vol. 112, No. 16. – P. E2102–E2111.
 23. Rabinowitz M., Ryan A., Gemelos G. Origins and rates of aneuploidy in human blastomeres // Fertil. Steril. – 2012. – Vol. 97, No. 2. – P. 395–401.
 24. Bronet F., Nogales M.-C., Martínez E. et al. Is there a relationship between time-lapse parameters and embryo sex? // Fertil. Steril. – 2015. – Vol. 103, No. 2. – P. 396–401.
 25. Mazur P., Nagorny V., Mykytenko D. et al. Disproportion of sex ratio within aneuploid embryos after aCGH // Hum. Reprod. – 2014. – Vol. 29, suppl. 1: Abstr. 30th Annu. Meet. Eur. Soc. Hum. Reprod. Embryol. (Munich, Germany 29 June–2 July, 2014). – P. i185 (P. 164).
 26. Mercier S., Morel F., Roux C. et al. Analysis of the sex chromosomal equipment in spermatozoa of a 47,XY male using two-colour fluorescence in situ hybridization // Mol. Hum. Reprod. – 1996. – Vol. 2, No. 7. – P. 485–488.
 27. MacDonald M., Hassold T., Harvey J. et al. The origin of 47,XXY and 47,XXX aneuploidy: heterogeneous mechanisms and role of aberrant recombination // Hum. Mol. Genet. – 1994. – Vol. 3, No. 8. – P. 1365–1371.
 28. Ogata T., Matsuo N. Turner syndrome and female sex chromosome aberrations: deduction of the principal factors involved in the development of clinical features // Hum. Genet. – 1995. – Vol. 95, No. 6. – P. 607–629.
 29. Sartorelli, E. M., Mazzucatto L. F., de Pina-Neto J. M. Effect of paternal age on human sperm chromosomes // Fertil Steril. – 2001. – Vol. 76, No. 6. – P. 1119–1123.
 30. Lorda-Sanchez I., Binkert F., Maechleret M. et al. Reduced recombination and paternal age effect in Klinefelter syndrome // Hum. Genet. – 1992. – Vol. 89, No. 5. – P. 524–530.
 31. Фогель Ф.Б., Мотульски А. Генетика человека. – М., 1989. – Т. 1. – 312 с.
 32. Wyrobek A. J., Aardema M., Eichenlaub-Ritter U. et al. Mechanisms and targets involved in maternal and paternal age effects on numerical aneuploidy // Environ. Mol. Mutagen. – 1996. – Vol. 28, No. 3. – P. 254–264.
 33. Eichenlaub-Ritter U. Parental age-related aneuploidy in human germ cells and offspring: a story of past and present // Environ. Mol. Mutagen. – 1996. – Vol. 28, No. 3. – P. 211–236.
 34. Martin C. L., Kirkpatrick B. E., Ledbetter D. H. Copy number variants, aneuploidies, and human disease // Clin. Perinatol. – 2015. – Vol. 42, No. 2. – P. 227–242.
 35. Biancotti J.-C. Human embryonic stem cells as models for aneuploid chromosomal syndromes // Stem cells. – 2010. – Vol. 28. – P. 1530–1540.
 36. Колотий А.Д. Молекулярно-цитогенетические исследования мозаичных форм численных хромосомных аномалий в постнатальном и эмбриональном развитии: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.15. – М., 2008. – 20 с.
 37. Hook E. B., Schreinemachers D.M., Willey A.M. et al. Inherited structural cytogenetic abnormalities detected incidentally in fetuses diagnosed prenatally: frequency, parental-age associations, sex-ratio trends, and comparisons with rates of mutants // Am. J. Hum. Genet. – 1984. – Vol. 36, No. 2. – P. 422–443.
 38. Forrester M. B., Merz R. D. Epidemiology of triploidy in a population-based birth defects registry, Hawaii, 1986–1999 // Am. J. Med. Genet. – 2003. – Vol. 119A, No. 3. – P. 319–323.
 39. Wellesley D., Dolk H., Boyd P.A. et al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe // Eur. J. Hum. Genet. – 2012. – Vol. 20, No. 5. – P. 521–526.

Представлена М.А. Пилинскою
Поступила 03.06.2015

ДОСЛІДЖЕННЯ АНЕУПЛОЇДІЇ ТА ПОЛІПЛОЇДІЇ У ЛЮДИНИ У ПРОГРАМАХ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКЦІЙНИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Ю.В. Гонтар^{1, 2}, О.Ю.Верлінський¹, І.Є. Ільїн¹,
О.М. Федота²

¹ ТОВ «Медичний центр ІГР»,

Україна, 03115, м. Київ, проспект Перемоги, 121-Б

² Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Україна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4

e-mail: genetics-J@yandex.ru

Мета. Встановити частоти анеуплоїдії і поліплоїдії серед сперматозоїдів, доімплантаційних ембріонів, ембріонів, які зупинилися в розвитку, плодів, які розвиваються і дорослих людей, досліджених в рамках допоміжних репродукційних технологій. **Методи.** Для визначення хромосомного набору клітин зразків різного біологічного матеріалу застосовувалися цитогенетичні та молекулярно-цитогенетичні методи дослідження. **Результати.** Найбільш висока частота анеуплоїдії відзначається серед доімплантаційних ембріонів (69,1 %) і серед ембріонів, які зупинилися в розвитку (60,9 %). Співвідношення анеуплоїдії і еуплоїдного набору хромосом є подібним для обох статей у всіх об'єктах дослідження, крім ембріонів, які зупинилися в розвитку – для жіночої статі воно склало 1:1, для чоловічого – 1,8:1. Серед сперматозоїдів найбільш частими є анеуплоїдії по 18-й (27 %) і статевим (30,3 %) хромосомам, серед преімплантаційних ембріонів – по 13-й хромосомі (31,1 %), серед абортусов – по 18-й (40,6 %), для плодів – 21-й (72,2 %). Співвідношення статей серед поліплоїдних преімплантаційних ембріонів – 1:1, ембріонів, які зупинилися в розвитку – 2,5:1 на користь чоловічої статі. **Висновки.** Висока частота анеуплоїдії серед ранніх ембріонів є основною причиною порушення імплантації, самовільного переривання вагітності на різних термінах або наявності множинних вад розвитку плоду. Преімплантаційний генетичний скринінг необхідний для зниження частоти хромосомних аномалій і підвищення результативності допоміжних репродукційних технологій.

Ключові слова: хромосомні аномалії, анеуплоїдія, поліплоїдія, каріотип, преімплантаційний генетичний скринінг.

INVESTIGATION OF HUMAN ANEUPLOIDY AND POLY-PLOIDY IN SUBCIDIARY REPRODUCTIVE TECHNOLOGY PROGRAMS

Y.V. Gontar^{1, 2}, O.Y. Verlinsky¹, I.E. Ilyin¹, O. M. Fedota²

¹ LLC «Medical center IGR»

Ukraine, 03115, Kiev, Pobedy ave., 121-B

²V. N. Karazin Kharkiv National University

Ukraine, 61022, Kharkiv, Svobody sq., 4

e-mail: genetics-J@yandex.ru

Aim. To evaluate the frequency of aneuploidy and polyploidy among sperm, preimplantation embryos, the embryos stopped in development, developing fetuses and adults studied in the framework of subsidiary reproductive technologies. **Methods.** To determine the chromosomes of cells from samples of different biological material cytogenetic and molecular cytogenetic methods were used. **Results.** The highest frequency of aneuploidy is observed among the preimplantation embryos (69.1 %) and the embryos stopped in development (60.9 %). Aneuploid/euploid chromosome set ratio is similar for both genders in all research objects except embryos stopped in development: for females it was 1:1, for males – 1.8:1. Among the spermatozoa most frequent is aneuploidy along the 18th (27 %) and sex (30.3 %) chromosomes, among preimplantation embryos – along the 13th chromosome (31.1 %), among abortuses along the 18th chromosome (40.6 %), fetuses – along the 21st chromosome (72.2 %). Sex ratio among polyploid preimplantation embryos – 1:1, among the embryos stopped in development – 2.5:1 in favor of males. **Conclusions.** The high frequency of aneuploidy among the early embryos is a leading cause of implantation failure, spontaneous abortion at different timing or the presence of multiple fetal malformations. Preimplantation genetic screening is essential for reducing the incidence of chromosomal abnormalities and increase in the effectiveness of subsidiary reproductive technologies.

Keywords: chromosomal abnormalities, aneuploidy, polyploidy, karyotype, preimplantation genetic screening.