

БИОХИМИЯ

УДК 577.218
DOI: 10.26456/vtbio359

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ХРОМОСОМНЫХ ПЕРЕСТРОЕК У ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА

А.В. Молчанова, А.Н. Панкрушина
Тверской государственной университет, Тверь

В ходе исследования результатов преимплантационного генетического тестирования были выявлены разнообразие и частота встречаемости хромосомных перестроек у эмбрионов человека. Наиболее часто встречающимися являются анеуплоидии 15, 16, 21 и 22 хромосом, сегментарные нарушения 1 хромосомы. Наименее часто – нарушения 12 хромосомы и половых хромосом. Выявлено, что к факторам, влияющим на риск возникновения хромосомных перестроек у эмбрионов человека, относятся: возраст родителей, наличие утраченной беременности или более двух неудачных ЭКО в анамнезе, наличие хромосомных аномалий у других членов семьи.

***Ключевые слова:** преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ), хромосомные перестройки, анеуплоидия, сегментарные нарушения, аутосомы и половые хромосомы, влияние факторов, риск возникновения хромосомных аномалий.*

Введение. В настоящее время наиболее часто используемым методом исследования эмбриона с целью выявления хромосомных перестроек является преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ), которое проводится в рамках процедуры экстракорпорального оплодотворения (Yang, 2022, Федотова, 2022).

Хромосомные перестройки являются одной из причин неудачных попыток ЭКО (Pendina, 2019). Выявление их на ранней стадии развития эмбриона позволяет сократить риск привычной потери беременности и снизить вероятность рождения детей с различными заболеваниями (Голубкина, 2023).

С помощью преимплантационного генетического тестирования возможно обнаружение у исследуемых эмбрионов множества хромосомных перестроек, затрагивающих как аутосомы, так и половые хромосомы (Madero, 2023). Наиболее распространенными хромосомными aberrациями являются анеуплоидии и сегментарные нарушения.

Установлено, что возраст родителей является одним из главных факторов, повышающих риск возникновения хромосомных перестроек у эмбриона (Гинзбург, 2023). Однако наличие утраченной беременности в анамнезе, наличие в семье хромосомных аномалий у других детей или родственников, наличие более двух неудачных попыток ЭКО также увеличивают вероятность развития аномалий у эмбриона (Игитова, 2018). В данной статье представлено исследование, направленное на выявление разнообразия и частоты встречаемости хромосомных аномалий, а также факторов, повышающих риск возникновения хромосомных перестроек у эмбриона человека.

Цель: исследовать структурные хромосомные перестройки у эмбрионов человека.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать влияние различных факторов на риск возникновения структурных хромосомных перестроек у эмбриона человека.
2. Выявить разнообразие и частоту встречаемости структурных хромосомных перестроек у исследуемых эмбрионов.
3. Провести сравнительную характеристику влияния факторов в трех возрастных группах.

Методика. В качестве исследуемого материала были использованы результаты преимплантационного генетического тестирования, предоставленные генетической лабораторией ООО «Медикал Геномикс». Все персональные данные были обезличены.

Генетической лабораторией была предоставлена сводная таблица, содержащая информацию о проведенных преимплантационных генетических тестированиях эмбрионов в период с 2017 г. по 2023 г. Из нее были отобраны результаты исследований эмбрионов с хромосомными нарушениями.

Для исследования была использована информация о дате проведения биопсии, дате рождения женщины и мужчины; информацию о выявленных хромосомных аномалиях у эмбриона; заключение экспертов о не рекомендации эмбрионов к переносу или необходимости консультации генетика; указание является ли женщина старше 35 лет и/или мужчина старше 39 лет; информацию о наличии утраченной беременности в анамнезе, наличии в семье хромосомных аномалий у других детей или родственников, наличии более двух неудачных ЭКО; пол будущего ребенка (табл. 1).

Таблица 1

Пример оформления результатов тестирования эмбрионов

Дата биопсии	Д.р. жен	Д.р. муж	Результат секвенирования	Рекомендации	Ж. старше 35	М. старше 39	Утр. берем. в анамнезе	ХА ребенка	ХА родственников	>2 неудач ЭКО	Пол
17.03.2023	24.01.1985	21.07.1978	seq[GRC h37] (16)x3,(22)x1,(X)x2	Не рекомендован к переносу	X	X	X	-	-	X	F

Примечание. X – признак указан в анамнезе; F – female (женский пол).

В приведенном примере оформления результатов тестирования указано, что у эмбриона были выявлены трисомия по 16 хромосоме и моносомия по 22 хромосоме. В связи с этим, он не рекомендован к переносу. У эмбриона нет нарушений в половых хромосомах, поэтому возможно определить пол будущего ребенка – женский. На момент проведения биопсии возраст матери составляет 38 лет (старше 35 лет), отца – 44 года (старше 39 лет). У данной пары в анамнезе указано наличие утраченной беременности и более двух неудачных ЭКО. В семье нет других детей или родственников, у которых обнаружены хромосомные аномалии.

Для проведения преимплантационного генетического тестирования используется ДНК из клеток трофэктодермы эмбриона. На 5–6 сутки развития исследуемого эмбриона проводится биопсия. Из полученных клеток выделяется и очищается ДНК. Вторым этапом исследования является проведение полногеномной амплификации с целью определения нуклеотидной последовательности (Браун, 2011). Она включает в себя подготовку материала к секвенированию и проведение секвенирования (Pei, 2022). Далее обрабатывают полученные результаты и подготавливают библиотеку. На последнем этапе исследования проводится интерпретация профилей, построение графиков с помощью компьютерных программ и оформление итогового результата в виде вышеупомянутой таблицы (табл. 1).

Результаты и обсуждение. В период с июня 2017 г. по май 2023 г. были проведены генетические тестирования 18994 эмбрионов. Из результатов тестирований были отобраны данные исследований 9567 эмбрионов, у которых выявились хромосомные аномалии. Из отобранных данных для нашего исследования были использованы результаты тестирований 6795 эмбрионов, для которых были указаны дата проведения биопсии, даты рождения матери и отца (рис. 1). На основе информации о дате биопсии и датах рождения родителей было проведено вычисление точного возраста женщины и мужчины.

Обработка полученных данных проводилась с использованием инструментов программы Microsoft Excel.

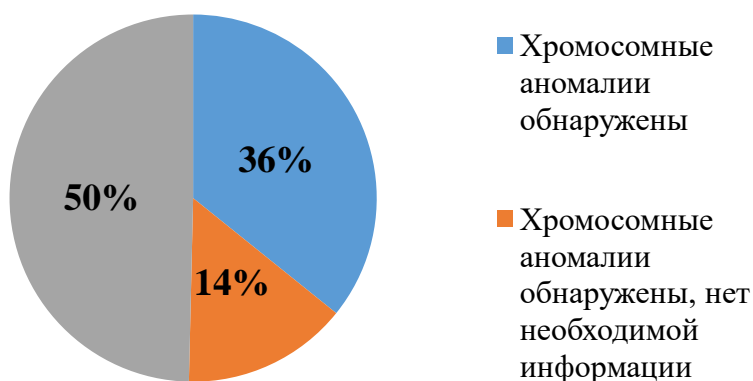


Рис. 1. Частота встречаемости эмбрионов с хромосомными аномалиями среди всех результатов тестирований

В ходе решения задач исследования результаты тестирований были разделены на группы. В качестве основания классификации был выбран признак «возраст родителей». Было выделено три группы: женщина примерно одного возраста с мужчиной (разница в возрасте не превышает пяти лет); женщина старше мужчины более чем на пять лет; женщины младше мужчины более чем на пять лет (рис.2). Наибольшее количество пар вошло в первую группу, наименьшее – во вторую.

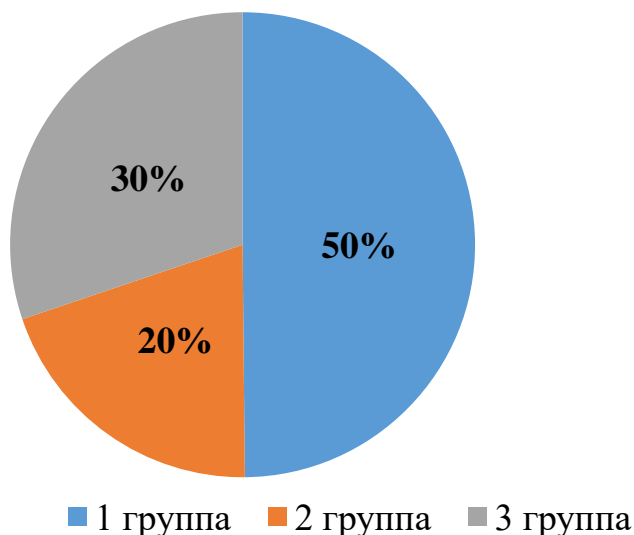


Рис. 2. Классификация результатов тестирования эмбрионов

Для каждой группы было проведено исследование влияния факторов на риск возникновения хромосомных аномалий у эмбриона (табл. 2). Было рассмотрено действие шести факторов: возраст женщины (1), возраст мужчины (2), наличие утраченной беременности в анамнезе (3), наличие в семье хромосомных аномалий у других детей (4), наличие в семье хромосомных аномалий у других родственников (5), наличие более двух неудачных ЭКО (6). Наибольшее влияние на риск развития хромосомных аномалий у эмбриона оказывает возраст родителей, наименьшее – наличие хромосомных аномалий у других родственников.

Таблица 2

Количество эмбрионов, подвергшихся влиянию конкретного фактора

	Ж. старше 35	М. старше 39	Утр. берем. в анамнезе	ХА ребенка	ХА родственников	>2 неудач ЭКО
1 группа	2724	1526	386	85	20	584
2 группа	1336	78	216	55	23	213
3 группа	976	1801	189	32	6	290

В ходе исследования был проведен подсчет количества эмбрионов, подвергшихся одновременному влиянию определенного числа факторов (табл. 3). Результаты показали, что влияние нескольких факторов одновременно увеличивает риск развития хромосомных аномалий. Вероятность того, что исследуемый эмбрион подвергнется одновременному влиянию всех шести факторов, крайне низкая. В связи с этим, необходимы дальнейшие исследования с целью увеличения объема выборки.

Таблица 3

Количество эмбрионов, подвергшихся влиянию факторов

Количество факторов	0	1	2	3	4	5	6
1 группа	455	1024	1501	332	72	3	0
2 группа	17	855	399	76	10	0	0
3 группа	150	752	938	181	27	3	0

В каждой возрастной группе было исследовано влияние вышеуказанных факторов на риск возникновения перестроек в аутосомах и в половых хромосомах (рис. 3). Наибольшее количество хромосомных аномалий во всех возрастных группах наблюдается в аутосомах, наименьшее – в половых хромосомах.



Рис. 3. Количество хромосомных аномалий в аутосомах и в половых хромосомах: А–В – в первой, второй и третьей возрастных группах

В ходе исследования были выявлены разнообразие и частота встречаемости структурных хромосомных перестроек у эмбрионов. Хромосомные аномалии затрагивают все 23 пары хромосом в кариотипе. Наиболее распространенными среди анеуплоидных хромосом в трех возрастных группах являются трисомии и моносомии 15, 16, 21 и 22 хромосом, наименее распространенными – нарушения 12 хромосомы (рис. 4).

Сегментарные нарушения встречаются несколько чаще анеуплоидий, преимущественно делеции и дупликации. Наиболее подвержена нарушениям 1 хромосома, наименее – 12 хромосома (рис. 5).

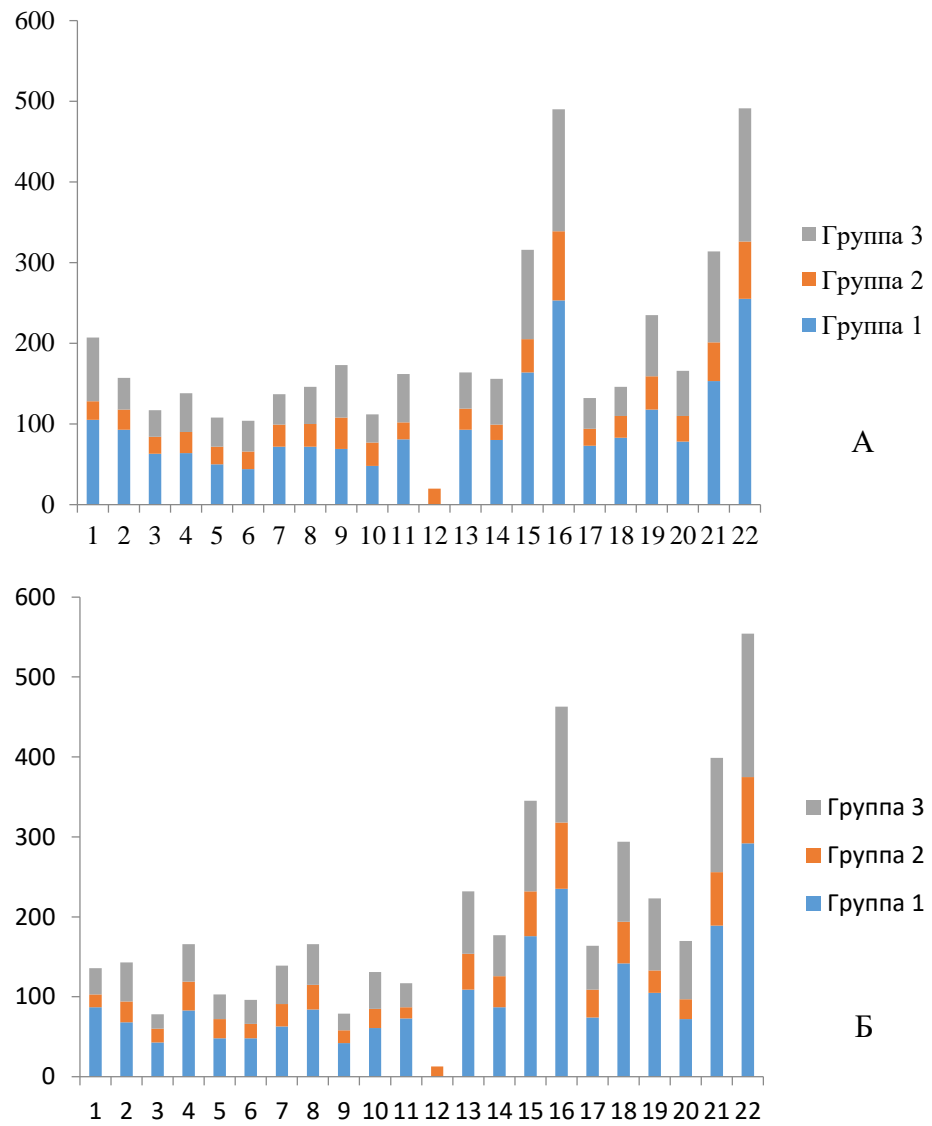


Рис. 4. Частота встречаемости анеуплоидии аутосом в абсолютных единицах:
А – трисомия, Б – моносомия

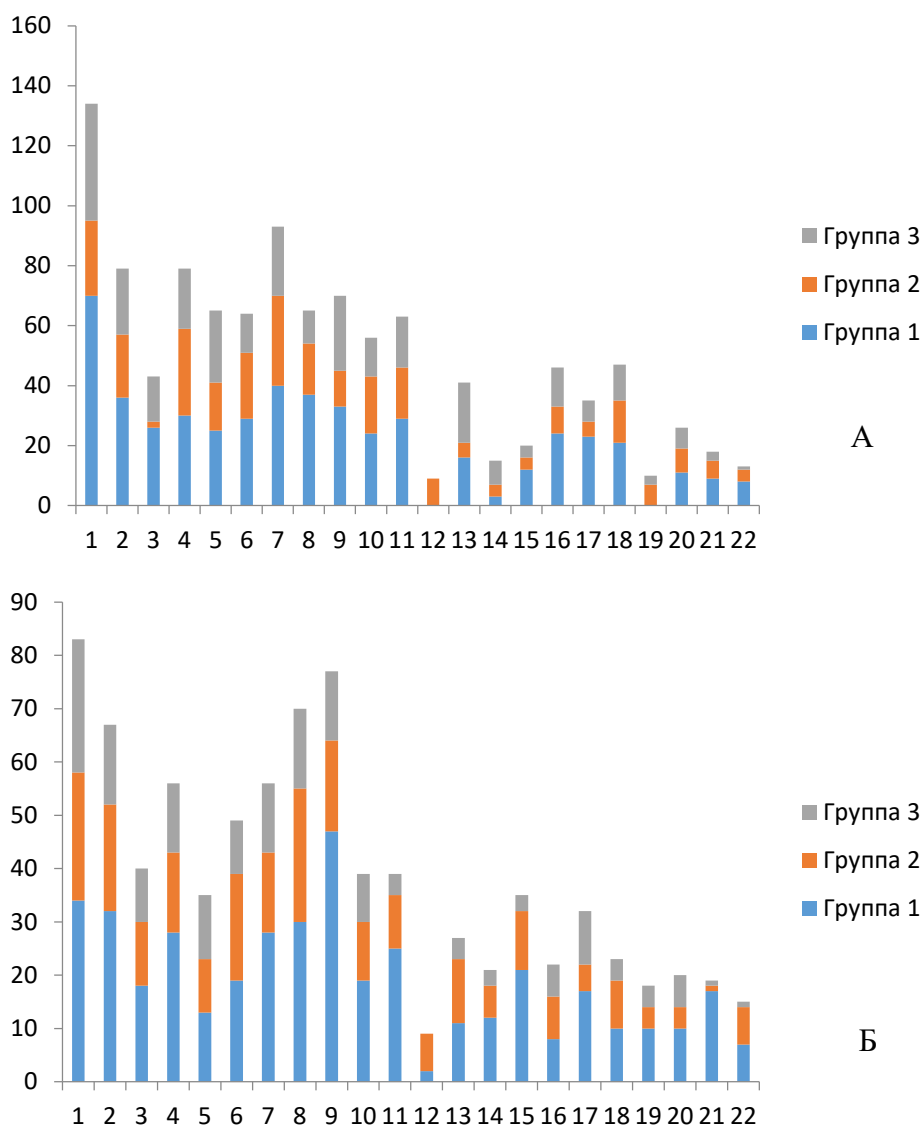


Рис. 5. Частота встречаемости сегментарных нарушений аутосом в абсолютных единицах: А – делеция, Б – дупликация

Эмбрионы с перестройками в половых хромосомах обладают низкой жизнеспособностью. В связи с этим, снижается вероятность выявления у исследуемого эмбриона аномалий половых хромосом (табл. 4). Наиболее часто в трех возрастных встречаются анеуплоидии Y хромосомы, наименее часто – X хромосомы. Среди сегментарных

нарушений наиболее распространены делеции и дупликации X хромосомы, наименее – дупликации Y хромосомы.

Таблица 4

Частота встречаемости хромосомных перестроек в половых хромосомах в абсолютных единицах

Возрастная группа	Хромосома	Анеуплоидия		Сегментарные нарушения	
		Увеличение	Уменьшение	Делеции	Дупликации
Группа 1	X	37	2	69	23
	Y	14	122	33	1
Группа 2	X	3	-	83	21
	Y	2	13	6	-
Группа 3	X	1	3	15	16
	Y	239	84	22	-

Во второй возрастной группе не были обнаружены результаты исследований эмбрионов, в кариотипе которых отсутствовала Y хромосома. Дупликации Y хромосомы у эмбрионов второй и третьей возрастных групп также не обнаружены.

Заключение. Проведенное исследование результатов преимплантационного генетического тестирования 18994 эмбрионов, из которых у 6795 эмбрионов были обнаружены хромосомные перестройки и указаны необходимые данные, показал, что наиболее часто встречаются анеуплоидии 15, 16, 21 и 22 хромосом и сегментарные нарушения 1 хромосомы. Наименее часто встречаются аномалии 12 хромосомы и половых хромосом. Факторами, наиболее влияющими на риск возникновения хромосомных перестроек у эмбрионов человека, являются возраст женщины, возраст мужчины, наличие утраченной беременности в анамнезе, наличие в семье хромосомных аномалий у других детей, наличие в семье хромосомных аномалий у других родственников, наличие более двух неудачных ЭКО в анамнезе. Наибольшее влияние на риск возникновения хромосомных аномалий у эмбриона оказывает возраст родителей, наименьшее – наличие хромосомных аномалий у других родственников.

Авторы выражают благодарность заведующей отделом медицинской геномики тверской генетической лаборатории ООО «Медикал Геномикс» к.м.н. Тофило Марии Александровне за разрешение на использование данных генетических тестирований и высококвалифицированное консультирование.

Список литературы

- Браун Т.А.* 2011. Геномы / Пер. с англ. М.-Ижевск: Институт Компьютерных исследований. 944 с.
- Гинзбург Б.Г.* 2023. Влияние возраста матери на патологию плода/ребенка // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. № 2.
- Голубкина П.В., Панкрушина А.Н.* 2023. Исследование кариотипов у эмбрионов человека при невынашивании беременности // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. № 3(71). С. 17-26.
- Федотова К.В., Панкрушина А.Н.* 2022. Анализ факторов, влияющих на решение о переносе мозаичных эмбрионов на этапе преимплантационного генетического тестирования // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. № 2(66). С. 39-49.
- Игитова М.Б., Ремнева О.В., Кравцова Е.С.* 2018. Перинатальные исходы у женщин с репродуктивными потерями в анамнезе // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. № 2 (20).
- Madero J.I., Manotas M.C., García-Acero M.* 2023. Preimplantation genetic testing in assisted reproduction // *Minerva Obstet Gynecol.* V. 75. № 3. P. 260-272.
- Pei Z., Deng K., Lei C.* 2022. Identifying balanced chromosomal translocations in human embryos by Oxford nanopore sequencing and breakpoints region analysis [Электрон. ресурс] // *Front Genet.* Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35116057/> (дата обращения: 27.11.2023)
- Pendina A.A., Shilenkova Y.V., Talantova O.E.* 2019. Reproductive History of a Woman With 8p and 18p Genetic Imbalance and Minor Phenotypic Abnormalities [Электрон. ресурс] // *Front Genet.* Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31824569/> (дата обращения: 15.12.2023)
- Yang H., DeWan A.T., Desai M.M.* 2022. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: challenges in clinical practice // *Hum Genomics.* V. 16. № 1. P. 69.

INVESTIGATION OF STRUCTURAL CHROMOSOMAL REARRANGEMENTS IN HUMAN EMBRYOS

A.V. Molchanova, A.N. Pankrushina

Tver State University, Tver

During the study of the results of preimplantation genetic testing the frequency of occurrence of chromosomal rearrangements in human embryos was revealed. The most common are changes in the number of chromosomes 16, 21 and 22, segmental disorders of chromosome 1. After studying the results, factors affecting the risk of chromosomal rearrangements in human embryos were identified. These include the age of the parents, the presence

of a lost pregnancy or more than two unsuccessful IVF in the anamnesis, the presence of chromosomal abnormalities in other family members.

Keywords: *preimplantation genetic testing (PGT), chromosomal rearrangements, aneuploidy, segmental disorders, autosomes and sex chromosomes, the influence of factors, the risk of chromosomal abnormalities.*

Об авторах:

МОЛЧАНОВА Алина Викторовна – магистрант 2 курса направления 06.04.01 Биология, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: alinyon@yandex.ru.

ПАНКРУШИНА Алла Николаевна – доктор биологических наук, профессор кафедры зоологии и физиологии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: Alla.Pankrushina@mail.ru.

Молчанова А.В. Исследование структурных хромосомных перестроек у эмбрионов человека / А.В. Молчанова, А.Н. Панкрушина // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2024. № 2(74). С. 36-46.

Дата поступления рукописи в редакцию: 29.02.24

Дата подписания рукописи в печать: 01.06.24