

УДК 576.356.3, 576.356.2, 576.353.3

# Хромосомные aberrации в эмбриональном развитии человека как биологическое явление

А. Д. Иванова\*, М. Л. Семёнова

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119991 Россия

\*E-mail: ankivanova2@gmail.com

Поступила в редакцию 20.07.2023

Принята к печати 09.08.2023

DOI: 10.32607/actanaturae.25255

**РЕФЕРАТ** Отличительной чертой раннего эмбрионального развития млекопитающих, особенно человека, являются частые хромосомные аномалии. Анеуплоидии считаются фактором, способствующим неудачной имплантации эмбриона и спонтанным абортam. Влияние хромосомного мозаицизма на способность эмбрионов к нормальному развитию изучено недостаточно. Хотя в настоящее время считается, что значительная доля хромосомных дефектов ранних эмбрионов человека связана с особенностями клинических и лабораторных протоколов, в данном обзоре мы акцентируем внимание на биологических механизмах, ассоциированных с хромосомными аномалиями. В частности, рассмотрены главные события ооцитарного мейоза, процесса, влияющего не только на генетический статус неоплодотворенного ооцита, но и на дальнейшую жизнеспособность эмбриона; также проанализированы особенности первых делений дробления и причины частых хромосомных ошибок в раннем эмбриональном развитии. Кроме того, обсуждаются данные о самокоррекции хромосомного статуса ранних эмбрионов.

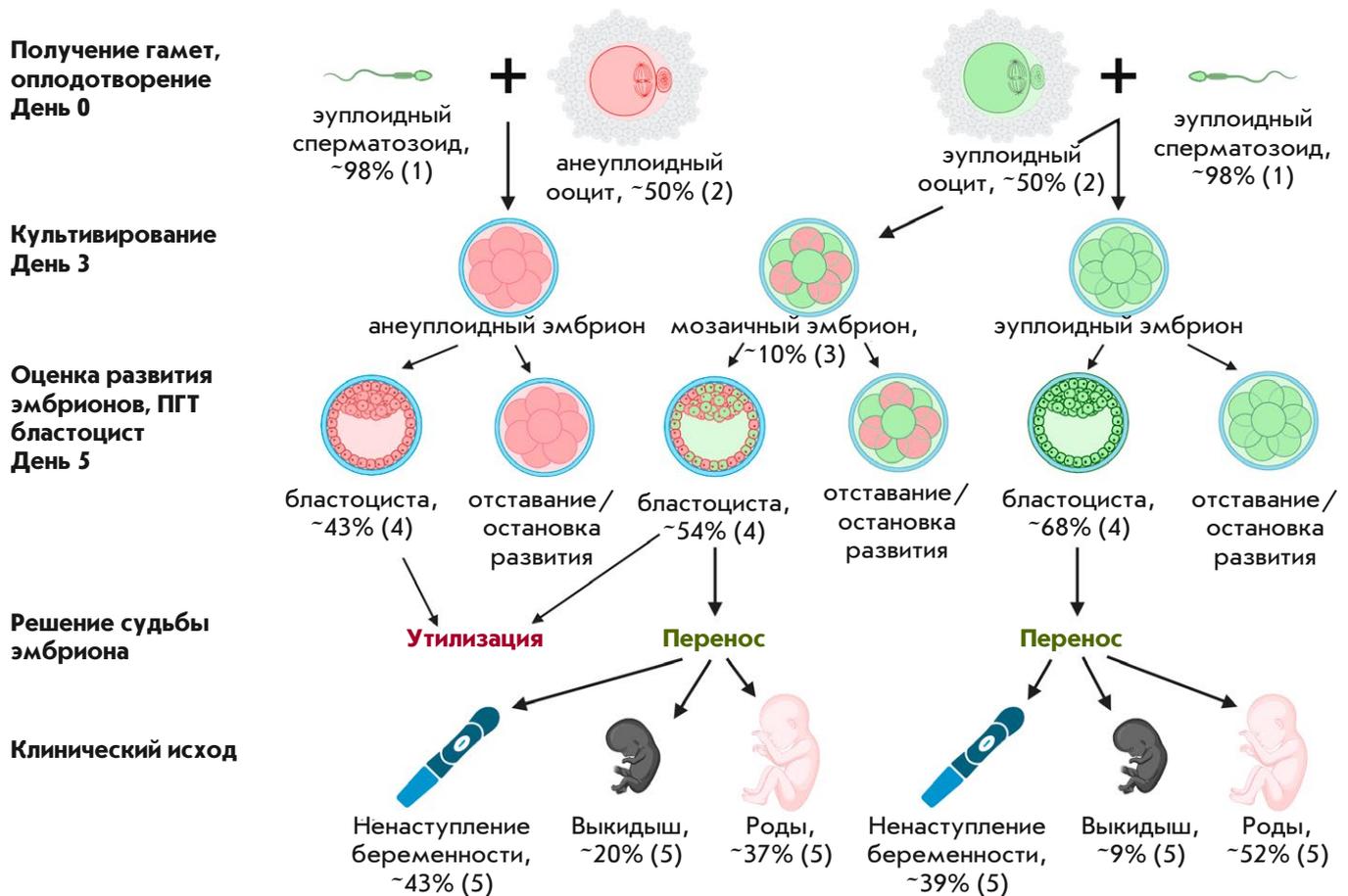
**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** хромосомный мозаицизм, анеуплоидия, преимплантационное развитие.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии; ПГТ – преимплантационное генетическое тестирование; ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение; ВКМ – внутренняя клеточная масса; ТЭ – трофэктодерма; МI – мейоз I; МII – мейоз II; SAC – контрольная точка сборки веретена (spindle assembly checkpoint); ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ICSI, intracytoplasmic sperm injection); FISH – флуоресцентная гибридизация *in situ*.

## ВВЕДЕНИЕ

В 2000-е годы в клиниках вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) стало широко применяться преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ). С помощью методов ПГТ обнаружено, что примерно половина ранних эмбрионов человека содержит хромосомные аномалии, хотя в ранних эмбрионах мыши эта частота составляет всего 1% [1]. По-видимому, эмбриональные хромосомные дефекты являются неотъемлемой частью эволюции *Homo sapiens* и контролируют процесс размножения в течение жизни [2]. Хромосомные дефекты объединяют широкий спектр геномных нарушений разной степени тяжести – от полиплоидии целой хромосомы и больших структурных анеуплоидий до субмикроскопических делеций и дупликаций. Анеуплоидные эмбрионы содержат клетки, имеющие одинаковые нарушения кариотипа. Мозаичные эмбрионы содержат как минимум две клеточные линии, обладающие разными кариотипами.

На преимплантационных стадиях развития хромосомные нарушения невозможно достаточно точно распознать по морфологическим характеристикам эмбрионов [3], но впоследствии они влияют на способность к развитию, поэтому имеют огромное значение в клинической практике ВРТ (рис. 1). Любые хромосомные аномалии вызывают генетический дисбаланс, который оказывает негативное действие на процессы развития после включения собственного генома эмбриона. У человека массивное включение эмбрионального генома (3 сутки развития) совпадает по срокам с часто наблюдаемыми отставанием и остановками развития эмбрионов, что объясняется, вероятно, именно генетическим дисбалансом как следствием хромосомных нарушений [4, 5]. Тем не менее, даже полностью анеуплоидные эмбрионы способны формировать морфологически нормальные бластоцисты. Впоследствии анеуплоидия препятствует имплантации и дальнейшему развитию эмбриона, приводя к самопро-



**Рис. 1.** Результативность циклов ЭКО в зависимости от хромосомного статуса гамет и эмбрионов. Зеленым цветом обозначены эуплоидные клетки, розовым – анеуплоидные. 1) Согласно опубликованным данным, сперматозоиды человека в подавляющем большинстве случаев не несут хромосомных аномалий [23, 24]. 2) Приведена усредненная оценка частоты хромосомных аномалий в ооцитах человека. Доля ооцитов, несущих анеуплоидии, колеблется от 20 до 80–90% в зависимости от возраста женщины (см., например, [80]). 3) Приведена усредненная оценка частоты мозаицизма эмбрионов в соответствии с экспериментальными данными [10, 15, 16]. 4) Частота формирования бластоцист для эмбрионов с различным хромосомным статусом приведена в соответствии с экспериментальными данными [81]. 5) Клинические исходы после переноса эуплоидных и мозаичных эмбрионов приведены в соответствии с экспериментальными данными [19]

извольным абортam на ранних сроках либо к постнатальным аномалиям [6, 7]. Поэтому в современной клинической практике при выявлении методами ПГТ полной анеуплоидии бластоцисты перенос не производится. Считается, что рост частоты эмбриональных анеуплоидий с увеличением возраста женщины является основным фактором, приводящим к постепенному снижению фертильности [8].

Согласно современным данным, частота хромосомного мозаицизма не связана с возрастом матери [9–11]. Хромосомный мозаицизм эмбрионов человека относится к явлениям, которые активно изучаются как научными лабораториями, так и эмбриологами клиник ЭКО. Хотя хромосомный моза-

ицизм в преимплантационных эмбрионах все чаще признается естественным биологическим явлением [12], существует вероятность искусственного повышения общей частоты мозаицизма вследствие влияния клинических факторов [13, 14]. Недавние многоцентровые исследования сообщают, что частота мозаицизма среди эмбрионов, прошедших ПГТ, составляет около 17% [15, 16], хотя в другой работе частота мозаицизма составила всего 2.6% [10], и эти различия, вероятно, связаны с особенностями лабораторных протоколов.

Мозаичные эмбрионы, содержащие эуплоидную клеточную линию (эуплоид–анеуплоидные мозаики), считаются наиболее распространенными

[17] и в некоторых случаях обладают потенциальными возможностями к нормальному развитию. В клинической практике зарегистрированы случаи рождения здоровых детей с нормальными кариотипами после переноса пациенткам мозаичных эмбрионов [6, 18, 19]. В случае обнаружения хромосомного мозаицизма решение о переносе или утилизации бластоцисты зависит от типа мозаицизма, доли анеуплоидных клеток и хромосом, вовлеченных в анеуплоидию. К сожалению, до сих пор нет однозначных данных о том, насколько вероятно вовлечение в хромосомный мозаицизм клеток внутренней клеточной массы (ВКМ), которые дадут начало развитию собственно плода. Существуют данные о различной вероятности вовлечения плода в хромосомный мозаицизм в зависимости от хромосомы – наибольший риск представляет мозаицизм по аутосомам 13, 18, 21 и половым хромосомам [20].

Хорошие клинические исходы после переноса мозаичных эмбрионов могут объясняться как действием неких биологических механизмов, способствующих восстановлению эуплоидности клеточных линий, так и исходно ложным диагнозом мозаицизма. Во-первых, при проведении ПГТ хромосомный статус определяется для ограниченного участка трофобластической оболочки (ТЭ). Согласно результатам исследований, в которых анализировали несколько биоптатов каждого эмбриона, эуплоидия и целых хромосомная анеуплоидия являются достаточно надежными диагнозами, тогда как в случае мозаицизма и сегментарной анеуплоидии единичный анализ биоптата ТЭ часто не отражает хромосомный статус всего эмбриона [21, 22]. Во-вторых, распространяется мнение, что высокая частота мозаичных эмбрионов в некоторых клиниках может быть обусловлена не биологическими причинами, а лабораторными манипуляциями или техническими эффектами [13, 14].

Хотя технические аспекты диагностики мозаичных эмбрионов в настоящее время активно обсуждаются, в данном обзоре подробно рассмотрены только истинно биологические аспекты формирования мозаичных и анеуплоидных эмбрионов, а также возможная самокоррекция их хромосомного статуса.

### **МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ АНЕУПЛОИДИИ РАННИХ ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА**

Эмбриональные хромосомные аномалии могут возникать в результате мейотических ошибок оогенеза и сперматогенеза или митотических ошибок раннего развития. Полная анеуплоидия имеет мейотическое происхождение в 90% случаев. Считается, что сперматозоиды вносят вклад всего в 1–2% случаев формирования эмбриональных анеуплоидий, в основном сегментарных [23, 24]. Так, генотипирование 967 био-

птатов эмбрионов показало, что около 70% сегментарных анеуплоидий имеют отцовское происхождение, а анеуплоидии, затрагивающие целую хромосому, в подавляющем большинстве случаев возникают из-за материнской ошибки. Около 70% мейотических трисомий возникают в первом, а 30% – во втором мейотическом делении оогенеза [25].

В ооцитах млекопитающих после стадии пахитены происходит разрушение центриолей [26]. У некоторых видов их функцию в мейозе выполняют ацентриолярные центры организации микротрубочек [27]. В ооцитах мыши при разрушении герминативного пузырька микротрубочки мейотического веретена собираются и стабилизируются вокруг хроматина в виде нескольких пузырьков, затем происходит их ориентация, устанавливаются полюса и биполярность веретена, т.е. происходит сборка мейотического веретена «наизнанку» с помощью множественных ацентриолярных центров организации микротрубочек [26, 27]. В отличие от ооцитов мыши, в ооцитах человека отсутствуют не только центросомы, но и заметные ацентриолярные центры организации микротрубочек. Через несколько часов после разрушения герминативного пузырька микротрубочки образуют небольшую «астру» внутри агрегата хромосом, и еще несколько часов требуется для формирования раннего веретена [28]. Сборка веретена в ооцитах человека основана на градиенте комплекса Ran-GTP вокруг каждой хромосомы. Помимо участия в сборке микротрубочек, Ran-GTP также регулирует активность моторных белков, например, HSET – моторного белка, ответственного за установку полюсов веретена, и Kid – моторного белка, способствующего выравниванию хромосом на метафазной пластинке [29]. Полюса веретена мейоза I (MI) ооцита человека изначально определены нечетко, хромосомы постоянно меняют свое положение на веретене, которое может временно становиться многополярным. В этом случае кинетохоры часто прикрепляются более чем к одному полюсу, что в дальнейшем может приводить к ошибкам сегрегации хромосом [28]. Хромосомы выравниваются на метафазной пластинке через 16 ч, анафаза начинается через 18 ч, и первое полярное тельце отделяется примерно через 20 ч после разрушения герминативного пузырька. Сборка веретена мейоза II (MII) происходит быстрее. Метафазная пластинка MII формируется в ооците спустя приблизительно 24 ч после начала созревания, и ооцит становится готовым к оплодотворению [28]. В отличие от MI, в MII редко встречается стадия многополярности веретена [30], что может объяснять более частые хромосомные ошибки в MI.

Как ни парадоксально, мейоз в отсутствие центросом может быть механизмом защиты от дополнительного роста частоты материнской анеуплоидии. Так, показано, что искусственно увеличенный уровень HSET в ооцитах мыши ускоряет биполяризацию веретена и способствует образованию более сфокусированных полюсов, сходных с митотическими. Этого изменения в морфогенезе мейотического веретена оказалось достаточно для тотального нарушения сегрегации хромосом [31].

Анеуплоидии в ранних эмбрионах человека встречаются на порядок чаще, чем в эмбрионах других видов млекопитающих [1]. Одной из причин этого может быть недостаточный уровень KIFC1, стабилизирующего мейотическое веретено, в ооцитах человека. Так, введение экзогенного KIFC1 в ооциты человека способствует снижению частоты мейотических хромосомных ошибок и, напротив, снижение уровня KIFC1 в ооцитах крупного рогатого скота и мыши приводит к нестабильности веретена и учащению ошибок сегрегации хромосом [32].

Известно, что частота анеуплоидии ранних эмбрионов человека увеличивается с возрастом матери. Ооциты блокируются в профазе МI с эмбрионального периода до момента овуляции. В течение этого длительного периода сцепление хроматид ослабляется из-за истощения молекул когезии, что является основным фактором, способствующим увеличению частоты хромосомных ошибок по мере старения женщины [33]. В МI как гомологичные хромосомы, так и сестринские хроматиды в биваленте удерживаются вместе кольцеобразной структурой из когезина. Когезин, удерживающий гомологичные хромосомы, расщепляется в анафазе МI, тогда как когезин, удерживающий сестринские хроматиды, должен сохраняться дольше, чтобы сестринские хроматиды оставались связанными до анафазы МII. Более 90% мейотических хромосомных ошибок возникают из-за преждевременного разделения сестринских хроматид [34]. В МI может происходить инвертированная сегрегация хромосом, при которой в анафазе расходятся сестринские хроматиды, а не гомологичные хромосомы; частота этого явления в ооцитах человека резко увеличивается с возрастом матери [35]. Инвертированная сегрегация хромосом в МI приводит к нормальному количеству копий ДНК в дочерних клетках, но в МII хроматиды оказываются не связанными друг с другом когезином, что способствует ошибкам сегрегации [36]. Наконец, показано, что с возрастом матери снижается и эффективность SAC (spindle assembly checkpoint) – контрольной точки сборки веретена, ответственной за торможение начала анафазы

до тех пор, пока все кинетохоры хромосом не будут правильно прикреплены к веретену [37, 38].

Ооцитарный мейоз млекопитающих является сложным многоступенчатым процессом, подверженным частым хромосомным ошибкам. Кроме того, корректному прохождению мейоза ооцитом человека препятствуют дополнительные видоспецифичные особенности. Отсутствие центросом и ацентриольярных центров организации микротрубочек, нестабильность полюсов веретена деления, стадии многополярности веретена, недостаточность экспрессии генов, продукты которых стабилизируют веретено и контролируют прохождение стадий мейоза, истощение молекул когезии – все эти факторы в совокупности делают мейоз ооцитов человека крайне уязвимым для возникновения хромосомных aberrаций.

### **МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ХРОМОСОМНОГО МОЗАИЦИЗМА РАННИХ ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА**

Самой частой причиной хромосомного мозаицизма ранних эмбрионов являются постзиготические (митотические) ошибки в сегрегации хромосом. В отличие от анеуплоидии, для хромосомного мозаицизма не выявлено достоверной связи с возрастом матери [9, 10]. Наиболее высокому риску митотических ошибок подвергаются первые клеточные деления [17, 39]. Недавно было показано, что мозаицизм в большинстве случаев возникает уже на двухклеточной стадии [40], хотя раньше считалось, что чаще всего митотические ошибки происходят во втором или третьем делении, вероятно, из-за постепенного истощения материнских транскриптов, участвующих в процессе митоза [41]. Недостаточность или отсутствие экспрессии генов контрольных точек клеточного цикла потенциально увеличивает частоту митотических ошибок. Недавно обнаружили, что первые транскрипционные процессы у эмбриона человека наблюдаются уже на стадии пронуклеусов [42], однако массивная активация генома происходит только после второго-третьего клеточного деления [43, 44]. Водители клеточного цикла интенсивно включаются только на стадии морулы [45]. Кроме того, высказывается предположение, что эффективность SAC может становиться достаточно надежной, только когда в клетках эмбриона восстанавливается ядерно-цитоплазматическое соотношение [46].

Разрушение центросомы сперматозоида также может быть причиной возникновения мозаицизма в ранних эмбрионах человека [47]. Центросома сперматозоида формирует веретено первого деления дробления (яйцеклетка не несет своей центросомы), и митотические деления после оплодотворения требуют ее целостности [48]. В противном случае

происходит неправильное построение веретена, что приводит к ошибкам распределения хромосом между дочерними клетками. Клиническое исследование подтвердило это, показав, что оплодотворение ооцитов методом ИКСИ с использованием механически отсеченных фрагментов сперматозоидов приводит к увеличению частоты хромосомного мозаицизма в эмбрионах [47].

К митотическим ошибкам, приводящим к возникновению мозаицизма в исходно эуплоидном эмбрионе, относятся анафазное отставание, митотическое нерасхождение, эндорепликация, образование триполярных веретен, преждевременное деление клеток перед удвоением ДНК, разрушение хромосом [39, 49].

Анафазное отставание и митотическое нерасхождение считаются самыми частыми причинами возникновения мозаицизма в дробящихся эмбрионах. Анафазное отставание приводит к потере хромосом в клеточной линии без соответствующего увеличения числа хромосом в другой клеточной линии. Это явление подразумевает задержку одной или нескольких хромосом на экваторе митотического веретена после того, как подавляющее большинство сестринских хроматид других хромосом разделились и начали расхождение к полюсам. Самая частая причина анафазного отставания – прикрепление кинетохор к микротрубочкам, исходящим от обоих полюсов веретена (меротелические прикрепления, см. [50]). Кроме того, отстающие хромосомы могут быть недостаточно реплицированы, запутаны или вовсе не захвачены веретеном. В дальнейшем отстающие хромосомы могут включаться в состав микроядер [51].

Митотическое нерасхождение подразумевает неравномерное распределение хроматид между двумя дочерними клетками без потери хромосомного материала, что приводит к увеличению числа копий ДНК в одной клеточной линии и уменьшению в другой. Очевидно, это также связано с аномалиями ориентации кинетохор (т.е. их соединения с полюсами веретена через микротрубочки). В результате поклеточного FISH-анализа 138 мозаичных эмбрионов на стадиях дробления было установлено, что 78% мозаичных хромосомных аномалий по 5–8 хромосомам вызваны именно митотическим нерасхождением (в эмбрионе моносомные и трисомные аномальные клеточные линии) и только 20% – анафазным отставанием (в эмбрионе только моносомные аномальные клеточные линии) [52]. Противоположные результаты получены в недавнем исследовании с использованием 24-хромосомного FISH: суммарно 35.21% хромосом характеризовались моносомией и только 5.64% – трисомией (проана-

лизированных хромосом  $n = 5547$ , клеток  $n = 250$ , бластоцист  $n = 17$ ), т.е. преобладающим механизмом возникновения мозаицизма было, предположительно, анафазное отставание с потерей хромосом. Анализ мозаицизма по номерам хромосом показал, что трисомия наблюдается чаще, чем моносомия, только для половых хромосом [53].

Реже возникновение мозаицизма в преимплантационных эмбрионах обусловлено другими митотическими ошибками. Эндорепликация (причина мозаицизма в 1.4% случаев [52]), при которой хромосомы вторично реплицируются без прохождения клеточного деления, приводит к образованию тетраплоидных клеток. Впоследствии хромосомы тетраплоидных клеток могут различными способами перераспределяться в последующих делениях, но в большинстве дочерних клеток число копий хромосом будет превышать норму. Разрушение хромосом и преждевременное деление клеток перед удвоением ДНК приводят к обратной ситуации с уменьшением числа копий хромосом по сравнению с нормой. Кроме того, аномальные триполярные веретена деления, формирующиеся вследствие нарушений центросомного регулятора PLK4, приводят к массовой потере хромосом в возникающих клеточных линиях [54].

Таким образом, возникновение хромосомного мозаицизма в ранних эмбрионах теоретически может быть связано с действием множества различных механизмов. Однако на сегодняшний день все еще нет надежных данных, позволяющих сделать однозначные выводы о преобладании того или иного механизма. Например, исследования, сравнивающие частоту анафазного отставания и митотического нерасхождения, имеют ряд ограничений. Скорость деления клеток различных клеточных линий может отличаться. При исходно равном количестве моносомных и трисомных клеток одна из клеточных линий в момент исследования может быть более заметной из-за высокой скорости деления клеток [55] либо одна из клеточных линий может активнее элиминироваться в ходе развития эмбриона.

### **ГИПОТЕЗА САМОКОРРЕКЦИИ АНОМАЛЬНЫХ ЭМБРИОНОВ НА РАННИХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ**

В клинической практике зарегистрированы случаи переноса мозаичных эмбрионов пациентам, в ЭКО-циклах которых не были получены эуплоидные эмбрионы. Хотя перенос мозаичных эмбрионов сопровождается повышенным риском негативных клинических исходов по сравнению с переносом эуплоидных эмбрионов [56], в некоторых случаях перенос мозаичных эмбрионов приводит к рождению детей с нормальными кариотипами. Первая

доказательная работа по этому вопросу опубликована в 2015 году. Мозаичные эмбрионы были перенесены 18 пациенткам, последовали 8 клинических беременностей, которые привели к рождению 6 здоровых детей; все доношенные беременности были подвергнуты биопсии ворсин хориона, и во всех случаях кариотип также был нормальным [57]. Эти результаты, а также опубликованные рекомендации PGDIS (Preimplantation Genetic Diagnosis International Society), заявляющие о возможности переноса мозаичных эмбрионов при отсутствии эуплоидных [58], обеспечили появление исследований, проведенных на больших выборках. Одно из последних обширных исследований предоставляет данные об исходах переноса 137 мозаичных эмбрионов. Для 8 из 37 зарегистрированных живорождений предварительно проводилось пренатальное генетическое тестирование, и был выявлен нормальный хромосомный набор [18]. В еще одной публикации сообщается о 29 случаях переноса бластоцист с низким уровнем мозаицизма, которые привели к клинической беременности; при проведении пренатального тестирования обнаружена 100% частота эуплоидии [6]. Положительные клинические исходы получены также в 36 случаях беременности после переноса эмбрионов с различным уровнем и типом мозаицизма: амниоцентез в каждом из этих случаев выявил нормальный кариотип, а беременности привели к рождению здоровых детей [59]. Кроме того, зарегистрированы случаи обнаружения мозаицизма при пренатальном тестировании, за которыми последовали здоровые живорождения с нормальными кариотипами [60]. Интересен и клинический случай рождения ребенка после переноса эмбриона с мозаичной моносомией по хромосоме 2 с уровнем 35%. Результаты анализа периферической крови этого новорожденного выявили мозаичную моносомию по хромосоме 2 с уровнем всего лишь 2% [61].

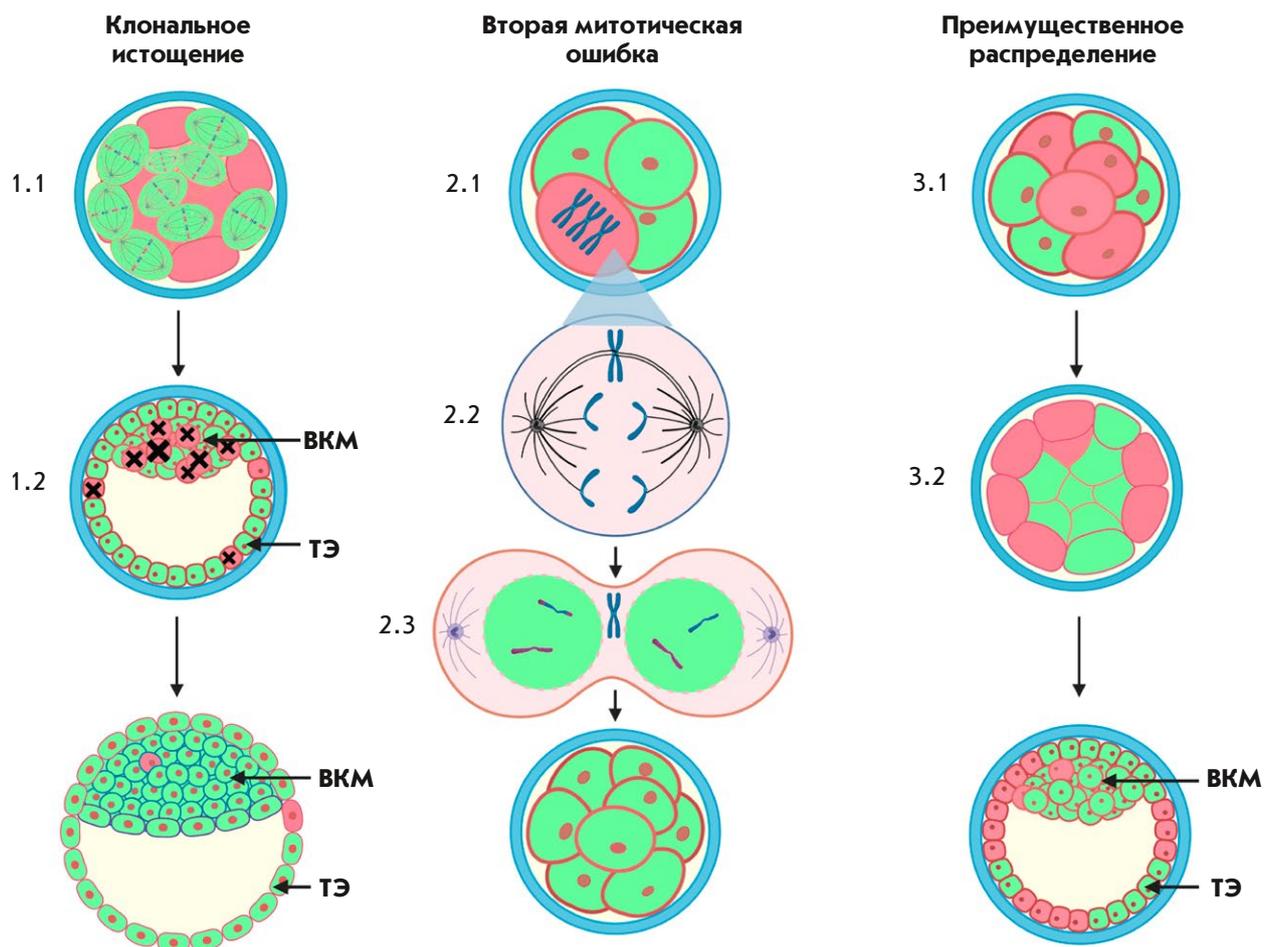
Безусловно, частично положительные клинические исходы переноса мозаичных эмбрионов могут объясняться низким уровнем истинного биологического мозаицизма, т.е. ложноположительной диагностикой мозаицизма на преимплантационных стадиях. Однако альтернативным объяснением может быть устранение генетических aberrаций, обнаруженных на стадии бластоцисты, на более поздних стадиях развития [12, 13, 62]. Вероятно, процессы самокоррекции активируются в целях предотвращения последствий дисбаланса ассоциированных генов [13].

Существуют три гипотетических модели самокоррекции: преимущественное распределение, клональное истощение, коррекция за счет второй митотической ошибки (рис. 2) [63]. Модель преиму-

щественного распределения предполагает неравномерное расхождение анеуплоидных клеток в ВКМ и ТЭ при разделении раннего эмбриона на две эти клеточные линии. Если большинство аномальных клеток окажутся в составе ТЭ, то влияние мозаицизма на развитие будущего плода будет не столь значимым. Модель клонального истощения предполагает большую скорость деления эуплоидных клеток по сравнению с анеуплоидными, а также наличие апоптотической гибели и элиминации аномальных клеток. Согласно третьей модели самокоррекции, вторая митотическая ошибка может скорректировать хромосомный набор в аномальных клетках до нормы.

Данные о том, что плодный мозаицизм (~0.2% по результатам амниоцентеза) встречается на порядок реже, чем плацентарный (~2% по результатам кариотипирования ворсин хориона) [20, 64], позволили предположить преимущественное распределение аномальных клеток в ТЭ. С другой стороны, изначально соотношение эуплоидных и аномальных клеток в ТЭ и ВКМ может быть сходным, но в ВКМ механизмы элиминации анеуплоидных клеток работают эффективнее. Даже при нормальном развитии в ВКМ эуплоидных эмбрионов наблюдается всплеск запрограммированной клеточной гибели, связанный с выбором судьбы клетками ВКМ и разделением их на гипобласт и эпибласт [65]. Множество исследований, в которых сравнивались образцы ТЭ и ВКМ мозаичных бластоцист человека, не выявили признаков преимущественного распределения анеуплоидных клеток в ТЭ бластоцисты [66–69]. По итогам повременной съемки развития эмбрионов в мышинной модели искусственно вызванного хромосомного мозаицизма преимущественное распределение аномальных клеток в ТЭ также не было зафиксировано [12].

В то же время в вышеупомянутом исследовании [12] выявлены серьезные пролиферативные дефекты линии аномальных клеток в ТЭ и частая апоптотическая гибель анеуплоидных клеток ВКМ. Механизмы клеточной элиминации в эмбрионах млекопитающих начинают работать на поздних стадиях преимплантационного развития. Впервые апоптотическая гибель клеток наблюдается на стадии бластоцисты, причем эти процессы более выражены в клетках ВКМ, чем в клетках ТЭ [70]. Вероятно, этот факт может объяснять более активное действие механизмов самокоррекции путем клонального истощения именно в плодных тканях. В эксперименте с химеризацией эмбрионов показано, что часть мозаичных эмбрионов обладает полным потенциалом развития при условии, что они содержат достаточную долю эуплоидных клеток



**Рис. 2.** Модели самокоррекции хромосомного статуса мозаичных эмбрионов. Зеленым цветом обозначены эуплоидные клетки, розовым цветом – анеуплоидные. Веретена деления (1.1) отражают повышение уровня пролиферативной активности в эуплоидных клеточных линиях мозаичных эмбрионов. Черными крестами обозначены апоптотические процессы в анеуплоидных клетках (1.2). Трисомная анеуплоидная клетка эмбриона (2.1) может проходить через корректирующее митотическое деление. Одна из хромосом задерживается на экваторе веретена деления вследствие меротелического прикрепления микротрубочек к кинетохорам (2.2) и впоследствии не включается в ядра дочерних клеток (2.3). На (3.1, 3.2) изображено смещение анеуплоидных клеток к периферии эмбриона в область будущей трофэктодермы

[12]. В сходном исследовании уточнено, что элиминация анеуплоидных клеток основана на р53-зависимых процессах, включающих как аутофагию, так и апоптоз до, во время и после имплантации; в то же время эуплоидные клетки осуществляют компенсаторную пролиферацию в период имплантации [71]. В эмбрионах человека также повышены уровни пролиферации и гибели клеток в мозаичных бластоцистах по сравнению с эуплоидными [67, 69]. В исследовании, проведенном на эмбрионах макака-резуса, продемонстрировано, что процессы самокоррекции мозаицизма могут включать клеточную фрагментацию аномальных бластомеров [51]. Исследования лаборатории И.Н. Лебедева (НИИ

медицинской генетики, г. Томск) показали, что в полости мозаичных бластоцист присутствуют погибшие клетки, причем нарушения кариотипа в них встречаются гораздо чаще, чем в клетках ВКМ и ТЭ этих же бластоцист [72, 73]. Сходные результаты получены и в недавней работе, где сравнивали хромосомный статус биоптатов ТЭ и образцов, состоящих из клеток, оставшихся внутри *zona pellucida* после вылупления бластоцисты («клеточный мусор»). Аномальный кариотип выявлен в 85.7% образцов «клеточного мусора» ( $n = 18$ ), причем в соответствующих биоптатах ТЭ анеуплоидный и эуплоидный статусы выявлены в равном соотношении (9 : 9) [74]. Таким образом, результаты достаточно боль-

шого числа исследований свидетельствуют в пользу существования самокоррекции путем клонального истощения аномальных клеток, причем механизмы действия данной модели могут быть различными.

Модель самокоррекции путем второй митотической ошибки слабо поддерживается современными исследованиями, по крайней мере, в случае цельнохромосомных мозаичных анеуплоидий. Трисомные клеточные популяции теоретически могут самокорректироваться, потеряв дополнительную хромосому [62], однако в этом случае процент однородительских дисомий должен быть достаточно высоким, тогда как на стадии бластоцисты однородительская дисомия встречается крайне редко (0.06%) [75]. Тем не менее, на более поздних стадиях развития частота однородительских дисомий увеличивается. Так, частота однородительских дисомий у плодов с нормальным кариотипом, у которых предварительное кариотипирование ворсин хориона показало наличие мозаицизма, составила 2.1% [64]. Таким образом, нельзя полностью исключить возможность самокоррекции мозаичных эмбрионов путем второй ошибки митоза. В случае сегментарных аномалий такой путь представляется более вероятным. Ацентрические фрагменты хромосом неспособны прикрепиться к веретену митоза, соответственно, они могут утрачиваться [76].

Интересно, что плодный мозаицизм обычно включает аномалии половых хромосом или трисомию по 21, 18 и 16 хромосомам [20, 54], а индивиды с полной анеуплоидией по данным хромосомам являются жизнеспособными. Это наблюдение позволяет предположить, что механизмы самокоррекции более эффективны в случае мозаицизма по хромосомам, анеуплоидный набор которых чаще приводит к летальным исходам. Еще одним любопытным фактом является то, что перенос мозаичных эмбрионов, полученных из ооцитов пациенток молодого возраста, приводит к лучшим клиническим исходам по сравнению с переносом мозаичных эмбрионов пациенток более позднего репродуктивного возраста (от 34 лет и выше), т.е. механизмы самокоррекции, возможно, более эффективны в клетках эмбрионов молодых пациенток.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Актуальность изучения хромосомных aberrаций ранних эмбрионов и их влияния на нормальное развитие резко возросла с распространением клиник ВРТ. Механизмы возникновения полной эмбриональной анеуплоидии достаточно хорошо изучены, и анеуплоидия давно признана негативным факто-

ром, отрицательно влияющим на нормальное развитие эмбриона. Механизмы возникновения хромосомного мозаицизма менее изучены, чем для полной анеуплоидии. К тому же митотические ошибки, в отличие от мейотических, могут происходить на разных стадиях развития эмбриона. Решения о судьбе мозаичных эмбрионов, выявленных в клиниках ЭКО, до сих пор принимаются «неуверенно» вследствие отсутствия достаточной базы фундаментальных знаний. С биологической точки зрения потенциал развития мозаичных эмбрионов может зависеть как от доли и локализации аномальных клеток, так и от номеров хромосом, вовлеченных в мозаицизм [6, 20, 76–78]. Однако данные разных исследовательских групп различаются, вероятно, из-за наложения действия лабораторных и технических факторов на реальные биологические события, связанные с хромосомным мозаицизмом. Большинство диагнозов мозаичных эмбрионов могут быть ложноположительными [68, 79], а значит, большинство накопленных данных о клинических исходах после переноса мозаичных эмбрионов теряют актуальность. На сегодняшний день, используя имеющиеся скудные данные, можно однозначно сказать лишь одно: в некоторых случаях перенос мозаичного эмбриона может привести к рождению здорового ребенка. Некоторые данные о самокоррекции мозаичных эмбрионов, рассмотренные в данном обзоре, внушают доверие и дают надежду пациентам, для которых не удалось получить эуплоидные эмбрионы [12, 71]. С другой стороны, необходимо учитывать потенциальные риски. Все пациентки, для которых планируется перенос мозаичного эмбриона, должны получить тщательную генетическую консультацию.

В данном обзоре мы акцентировали внимание на биологических механизмах возникновения хромосомных дефектов и объединили данные о возможных процессах самокоррекции аномалий в ходе развития эмбриона. Однако следует иметь в виду, что массив рассмотренных исследований имеет ряд ограничений, главные из которых – культивирование эмбрионов в условиях *in vitro* и различия в методах диагностики хромосомного статуса, поэтому приведенные данные освещают лишь одну грань вопроса и являются недостаточными для понимания полной картины. Главным образом это касается такого неоднозначного феномена, как хромосомный мозаицизм. В первую очередь, целью дальнейших исследований должно стать четкое разделение «истинного» и «видимого в результатах ПГТ» хромосомного мозаицизма. ●

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bond D.J., Chandley A.C., Chandlev A. // *Aneuploidy*. 1983. P. 27–54.
2. Viotti M. // *Genes*. 2020. V. 11. № 6. P. 602.
3. Lee C.I., Chen C.H., Huang C.C., Cheng E.H., Chen H.H., Ho S.T., Lin P., Lee M.S., Lee T.H. // *Reprod. Biomed. Online*. 2019. V. 39. № 4. P. 569–579.
4. Munné S., Grifo J., Cohen J., Weier H.U.G. // *Am. J. Hum. Genet.* 1994. V. 55. № 1. P. 150.
5. Campbell A., Fishel S., Bowman N., Duffy S., Sedler M., Hickman C.F. // *Reprod. Biomed. Online*. 2013. V. 26. № 5. P. 477–485.
6. Munné S., Spinella F., Grifo J., Zhang J., Beltran M.P., Fragouli E., Fiorentino F. // *Eur. J. Med. Genet.* 2020. V. 63. № 2. P. 103741.
7. Tiegs A.W., Tao X., Zhan Y., Whitehead C., Kim J., Hanson B., Osman E., Kim T.J., Patounakis G., Gutmann J., et al. // *Fertility, Sterility*. 2021. V. 115. № 3. P. 627–637.
8. Liu K., Case A. // *J. Obstetrics Gynecology Canada*. 2011. V. 33. № 11. P. 1165–1175.
9. Sachdev N.M., Ribustello L., Liu E., McCulloh D.H., Grifo J., Munne S. // *Fertility, Sterility*. 2016. V. 106. № 3. P. e156–e157.
10. Katz-Jaffe M., McReynolds S., De Klerk K., Henry L.N., Schweitz M., Swain J., Schoolcraft W.B. // *Fertility, Sterility*. 2017. V. 108. № 3. P. e87–e88.
11. Gao J., Wei N., Zhu X., Li R., Yan L., Qiao J. // *J. Assisted Reproduction Genet.* 2023. V. 40. № 5. P. 1089–1098.
12. Bolton H., Graham S.J.L., van der Aa N., Kumar P., Theunis K., Fernandez Gallardo E., Voet T., Zernicka-Goetz M. // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. № 1. P. 1–12.
13. Capalbo A., Ubaldi F.M., Rienzi L., Scott R., Treff N. // *Hum. Reprod.* 2017. V. 32. № 3. P. 492–498.
14. Practice Committee and Genetic Counseling Professional Group (GCPG) of the American Society for Reproductive Medicine // *Fertility, Sterility*. 2020. V. 114. № 2. P. 246–254.
15. Munné S., Kaplan B., Frattarelli J.L., Child T., Nakhuda G., Shamma F.N., Silverberg K., Kalista T., Handyside A.H., Katz-Jaffe M., et al. // *Fertility, Sterility*. 2019. V. 112. № 6. P. 1071–1079. e7.
16. Capalbo A., Poli M., Rienzi L., Girardi L., Patassini C., Fabiani M., Cimadomo D., Benini F., Farcomeni A., Cuzzi J., et al. // *Am. J. Hum. Genet.* 2021. V. 108. № 12. P. 2238–2247.
17. van Echten-Arends J., Mastenbroek S., Sikkema-Raddatz B., Korevaar J.C., Heineman M.J., van der Veen F., Repping S. // *Hum. Reprod. Update*. 2011. V. 17. № 5. P. 620–627.
18. Zhang Y.X., Chen J.J., Nabu S., Yeung Q.S.Y., Li Y., Tan J.H., Suksalak W., Chanchamroen S., Quangkananurug W., Wong P.S., et al. // *Genes*. 2020. V. 11. № 9. P. 973.
19. Viotti M., Victor A.R., Barnes F.L., Zouves C.G., Besser A.G., Grifo J.A., Cheng E.H., Lee M.S., Horcajadas J.A., Corti L., et al. // *Fertility, Sterility*. 2021. V. 115. № 5. P. 1212–1224.
20. Grati F.R., Gallazzi G., Branca L., Maggi F., Simoni G., Yaron Y. // *Reprod. Biomed. Online*. 2018. V. 36. № 4. P. 442–449.
21. Navratil R., Horak J., Hornak M., Kubicek D., Balcova M., Tauwinklova G., Travnik P., Vesela K. // *Mol. Hum. Reprod.* 2020. V. 26. № 4. P. 269–276.
22. Marin D., Xu J., Treff N.R. // *Prenatal Diagnosis*. 2021. V. 41. № 5. P. 545–553.
23. McCoy R.C., Demko Z.P., Ryan A., Banjevic M., Hill M., Sigurjonsson S., Rabinowitz M., Petrov D.A. // *PLoS Genet.* 2015. V. 11. № 10. P. e1005601.
24. Bell A.D., Mello C.J., Nemes J., Brumbaugh S.A., Wysoker A., McCarroll S.A. // *Nature*. 2020. V. 583. № 7815. P. 259–264.
25. Kubicek D., Hornak M., Horak J., Navratil R., Tauwinklova G., Rubes J., Vesela K. // *Reprod. Biomed. Online*. 2019. V. 38. № 3. P. 330–339.
26. Szollosi D., Calarco P., Donahue R.P. // *J. Cell Sci.* 1972. V. 11. № 2. P. 521–541.
27. Schuh M., Ellenberg J. // *Cell*. 2007. V. 130. № 3. P. 484–498.
28. Holubcova Z., Blayney M., Elder K., Schuh M. // *Science*. 2015. V. 348. № 6239. P. 1143–1147.
29. Ems-McClung S.C., Emch M., Zhang S., Mahnoor S., Weaver L.N., Walczak C.E. // *J. Cell Biol.* 2020. V. 219. № 2. e201906045.
30. Roeles J., Tsiavaliaris G. // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. 1–10.
31. Bennabi I., Quéguiner I., Kolano A., Boudier T., Mailly P., Verlhac M.H., Terret M.E. // *EMBO Repts*. 2018. V. 19. № 2. P. 368–381.
32. So C., Menelaou K., Uraji J., Harasimov K., Steyer A.M., Seres K.B., Bucevicius J., Lukinavicius G., Mobius W., Sibold C., et al. // *Science*. 2022. V. 375. № 6581. P. eabj3944.
33. Lee H.L., McCulloh D.H., Hodes-Wertz B., Adler A., McCaffrey C., Grifo J.A. // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015. V. 32. № 3. P. 435–444.
34. Capalbo A., Bono S., Spizzichino L., Biricik A., Baldi M., Colamaria S., Ubaldi F.M., Rienzi L., Fiorentino F. // *Hum. Reprod.* 2013. V. 28. № 2. P. 509–518.
35. Patel J., Tan S.L., Hartshorne G.M., McAinsh A.D. // *Biology Open*. 2016. V. 5. № 2. P. 178–184.
36. Zielinska A.P., Holubcova Z., Blayney M., Elder K., Schuh M. // *Elife*. 2015. V. 4. P. e11389.
37. Musacchio A., Salmon E.D. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007. V. 8. № 5. P. 379–393.
38. Lagirand-Cantaloube J., Ciabrini C., Charrasse S., Ferrieres A., Castro A., Anahory T., Lorca T. // *Sci. Rept.* 2017. V. 7. № 1. P. 1–14.
39. Taylor T.H., Gitlin S.A., Patrick J.L., Crain J.L., Wilson J.M., Griffin D.K. // *Hum. Reprod. Update*. 2014. V. 20. № 4. P. 571–581.
40. Cavazza T., Takeda Y., Politi A.Z., Aushev M., Aldag P., Baker C., Choudhary M., Bucevicius J., Lukinavicius G., Elder K., et al. // *Cell*. 2021. V. 184. № 11. P. 2860–2877. e22.
41. Baart E.B., Martini E., van den Berg I., Macklon N.S., Galjaard R.H., Fauser B.C.J.M., van Opstal D. // *Hum. Reprod.* 2006. V. 21. № 1. P. 223–233.
42. Asami M., Lam B.Y.H., Ma M.K., Rainbow K., Braun S., VerMilyea M.D., Yeo G.S.H., Perry A.C.F. // *Cell Stem Cell*. 2022. V. 29. № 2. P. 209–216. e4.
43. Leng L., Sun J., Huang J., Gong F., Yang L., Zhang S., Yuan X., Fang F., Xu X., Luo Y., et al. // *Cell Stem Cell*. 2019. V. 25. № 5. P. 697–712. e6.
44. Wells D., Bermudez M., Steuerwald N., Thornhill A., Walker D., Malter H., Delhanty J., Cohen J. // *Hum. Reprod.* 2005. V. 20. № 5. P. 1339–1348.
45. Kiessling A.A. // *Nat. Biotechnol.* 2010. V. 28. № 10. P. 1025–1026.
46. Kyogoku H., Kitajima T.S. // *Developmental Cell*. 2017. V. 41. № 3. P. 287–298. e4.
47. Palermo G.D., Colombero L.T., Rosenwaks Z. // *Rev. Reprod.* 1997. V. 2. P. 19–27.
48. Silber S., Escudero T., Lenahan K., Abdelhadi I., Kilani Z., Munne S. // *Fertility, Sterility*. 2003. V. 79. № 1. P. 30–38.
49. Mantikou E., Wong K.M., Repping S., Mastenbroek S. // *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Mol. Basis Dis.* 2012. V. 1822. № 12. P. 1921–1930.

50. Cimini D., Howell B., Maddox P., Khodjakov A., Degrassi F., Salmon E. // *J. Cell Biol.* 2001. V. 153. № 3. P. 517–528.
51. Daughtry B.L., Rosenkrantz J.L., Lazar N.H., Fei S.S., Redmayne N., Torkenczy K.A., Adey A., Yan M., Gao L., Park B., et al. // *Genome Res.* 2019. V. 29. № 3. P. 367–382.
52. Munné S., Sandalinas M., Escudero T., Márquez C., Cohen J. // *Reprod. Biomed. Online.* 2002. V. 4. № 3. P. 223–232.
53. Ioannou D., Fonseka K.G.L., Meershoek E.J., Thornhill A.R., Abogrein A., Ellis M., Griffin D.K. // *Chromosome Res.* 2012. V. 20. № 4. P. 447–460.
54. Levy B., Hoffmann E.R., McCoy R.C., Grati F.R. // *Prenatal Diagnosis.* 2021. V. 41. № 5. P. 631–641.
55. Munné S., Wells D. // *Fertility, Sterility.* 2017. V. 107. № 5. P. 1085–1091.
56. Viotti M., Greco E., Grifo J.A., Madjunkov M., Li-brach C., Cetinkaya M., Kahraman S., Yakovlev P., Kornilov N., Corti L., et al. // *Fertility, Sterility.* 2023. S0015-0282(23)00716-1.
57. Greco E., Minasi M.G., Fiorentino F. // *N. Engl. J. Med.* 2015. V. 373. № 21. P. 2089–2090.
58. Leigh D., Cram D.S., Rechitsky S., Handyside A., Wells D., Munne S., Kahraman S., Grifo J., Katz-Jaffe M., Rubio C. // *Reprod. Biomed. Online.* 2022. V. 45. № 1. P. 19–25.
59. Lee C.I., Cheng E.H., Lee M.S., Lin P.Y., Chen Y.C., Chen C.H., Huang L.S., Huang C.C., Lee T.H. // *J. Assisted Reprod. Genet.* 2020. V. 37. № 9. P. 2305–2313.
60. Chen C.P., Lin Y.H., Chern S.R., Wu P.S., Chen S.W., Wu F.T., Lee M.S., Chen Y.Y., Wang W. // *Taiwanese J. Obstetrics Gynecol.* 2020. V. 59. № 1. P. 146–149.
61. Kahraman S., Cetinkaya M., Yuksel B., Yesil M., Pirkevi Cetinkaya C. // *Hum. Reprod.* 2020. V. 35. № 3. P. 727–733.
62. Bazrgar M., Gourabi H., Valojerdi M.R., Yazdi P.E., Baharvand H. // *Stem Cells Devel.* 2013. V. 22. № 17. P. 2449–2456.
63. Delhanty J.D.A. // *Hum. Fertility.* 2013. V. 16. № 4. P. 241–245.
64. Malvestiti F., Agrati C., Grimi B., Pompili E., Izzi C., Martinoni L., Gaetani E., Liuti M.R., Trotta A., Maggi F., et al. // *Prenatal Diagnosis.* 2015. V. 35. № 11. P. 1117–1127.
65. Xenopoulos P., Kang M., Puliafito A., Di Talia S., Hadjantonakis A.K. // *Cell Rept.* 2015. V. 10. № 9. P. 1508–1520.
66. Fragouli E., Lenzi M., Ross R., Katz-Jaffe M., Schoolcraft W.B., Wells D. // *Hum. Reprod.* 2008. V. 23. № 11. P. 2596–2608.
67. Capalbo A., Wright G., Elliott T., Ubaldi F.M., Rienzi L., Nagy Z.P. // *Hum. Reprod.* 2013. V. 28. № 8. P. 2298–2307.
68. Popovic M., Dheedene A., Christodoulou C., Taelman J., Dhaenens L., van Nieuwerburgh F., Deforce D., van den Abbeel E., De Sutter P., Menten B., et al. // *Hum. Reprod.* 2018. V. 33. № 7. P. 1342–1354.
69. Victor A.R., Tyndall J.C., Brake A.J., Lepkowsky L.T., Murphy A.E., Griffin D.K., McCoy R.C., Barnes F.L., Zouves C.G., Viotti M. // *Fertility, Sterility.* 2019. V. 111. № 2. P. 280–293.
70. Winiarczyk D., Piliszek A., Sampino S., Lukaszewicz M., Modliński J.A. // *Reproduction, Fertility, Devel.* 2021. V. 33. № 12. P. 725–735.
71. Singla S., Iwamoto-Stohl L.K., Zhu M., Zernicka-Goetz M. // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 1–15.
72. Жигалина Д.И., Скрябин Н.А., Артюхова В.Г., Светлаков А.В., Лебедев И.Н. // *Цитология.* 2016. Т. 58. № 6. С. 488–492.
73. Tšuiiko O., Zhigalina D.I., Jatsenko T., Skryabin N.A., Kanbekova O.R., Artyukhova V.G., Svetlakov A.V., Teearu K., Trosin A., Salumets A., et al. // *Fertility, Sterility.* 2018. V. 109. № 6. P. 1127–1134. e1.
74. Wang X., Zhao J., Yao Z., Xia Q., Chang T., Zeng J., Liu J., Li Y., Zhu H. // *Reproductive Sci.* 2023. P. 1–11.
75. Gueye N.A., Devkota B., Taylor D., Pfundt R., Scott Jr. R.T., Treff N.R. // *Fertility, Sterility.* 2014. V. 101. № 1. P. 232–236.
76. Fragouli E., Alfarawati S., Spath K., Babariya D., Tarozzi N., Borini A., Wells D. // *Hum. Genet.* 2017. V. 136. № 7. P. 805–819.
77. Spinella F., Fiorentino F., Biricic A., Bono S., Rubert A., Cotroneo E., Baldi M., Cursio E., Minasi M.G., Greco E. // *Fertility, Sterility.* 2018. V. 109. № 1. P. 77–83.
78. Martin A., Mercader A., Dominguez F., Quiñonero A., Perez M., Gonzalez-Martin R., Delgado A., Mifsud A., Pellicer A., De Los Santos M.J. // *Front. Mol. Biosci.* 2023. V. 10. P. 264.
79. Fragouli E., Munné S., Wells D. // *Hum. Reprod. Update.* 2019. V. 25. № 1. P. 15–33.
80. Franasiak J.M., Forman E.J., Hong K.H., Werner M.D., Upham K.M., Treff N.R., Scott R.T. // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014. V. 31. № 11. P. 1501–1509.
81. Rubio C., Rodrigo L., Mercader A., Mateu E., Buendia P., Pehlivan T., Vilorio T., Santos D.L., Simon C., Remohi J., et al. // *Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation With the International Society for Prenatal Diagnosis.* 2007. V. 27. № 8. P. 748–756.