

© Коллектив авторов, 2021

Н.П. МАКАРОВА, А.Н. ЕКИМОВ, Е.В. КУЛАКОВА,  
Ю.С. ДРАПКИНА, А.П. СЫСОЕВА, Н.А. КРАСНОВА, Е.А. КАЛИНИНА

## ОСОБЕННОСТИ МОЗАИЦИЗМА У ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА В ПРОГРАММАХ ЛЕЧЕНИЯ БЕСПЛОДИЯ МЕТОДАМИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии  
имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

**Актуальность.** На сегодняшний день, несмотря на широкое применение преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А), правильная оценка полученных результатов крайне важна. Наличие мозаицизма является одной из причин ошибочной интерпретации данных о генетическом статусе эмбриона при проведении ПГТ-А.

**Материалы и методы.** Проведено исследование, включающее анализ трофэктодермы 17 эмбрионов с помощью метода высокопроизводительного секвенирования (NGS). Все эмбрионы были анеуплоидными. Анеуплоидные эмбрионы были разделены на три части: клетки внутренней клеточной массы (ВКМ), трофэктодермы №1 и трофэктодермы №2.

**Результаты.** При анализе образцов клеток из разных частей эмбриона были обнаружены дополнительные хромосомные аномалии. У эмбриона №1 в клетках ВКМ были обнаружены делеция и дупликация по одной из хромосом, а в образце трофэктодермы №2 получена моносомия. Результат анализа клеток ВКМ эмбриона №2 показал дупликацию.

**Заключение.** Полученные данные подтверждают, что биопсия части трофэктодермы может быть нерепрезентативной относительно всех клеток трофэктодермы и ВКМ. Таким образом, стоит подчеркнуть, что в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) рекомендовано обязательное проведение скрининга I триместра на сроке 11–13 недель гестации.

**Ключевые слова:** анеуплоидии, ВРТ, вспомогательные репродуктивные технологии, ВРТ мозаицизм, беременность, имплантация эмбриона, мозаичный эмбрион, ПГТ-А.

**Вклад авторов.** Макарова Н.П.: культивирование эмбрионов, проведение биопсии трофэктодермы эмбриона, криоконсервация эмбриона редактирование и утверждение публикации; Екимов А.Н.: проведение преимплантационного генетического тестирования методом высокопроизводительного секвенирования (NGS); Кулакова Е.В.: редактирование рукописи статьи; Драпкина Ю.С., Сысоева А.П., Краснова Н.А.: сбор и анализ литературных данных, написание статьи; Калинина Е.А.: редактирование и утверждение публикации.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

**Финансирование.** Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Для цитирования: Макарова Н.П., Екимов А.Н., Кулакова Е.В., Драпкина Ю.С., Сысоева А.П., Краснова Н.А., Калинина Е.А. Особенности мозаицизма у эмбрионов человека в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология*. 2021; 7: 144-151  
<https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.7.144-151>

©A group of authors, 2021

N.P. MAKAROVA, A.N. EKIMOV, E.V. KULAKOVA, YU.S. DRAPKINA,  
A.P. SYSOEVA, N.A. KRASNOVA, E.A. KALININA

## CHARACTERISTICS OF EMBRYONIC MOSAICISM IN INFERTILITY TREATMENT WITH ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES

V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology,  
Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

**Relevance.** Although preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) has become a routine practice in ART, it is essential to assess its results accurately. Embryonic mosaicism is one of the reasons for errors in the interpretation of PGT-A results.

**Materials and methods.** Trophoctoderm biopsy samples from 17 embryos were analyzed using next-generation sequencing (NGS). All embryos were aneuploid. They were divided into three parts: cells of the inner cell mass (ICM), trophoctoderm No.1, and trophoctoderm No.2.

**Results.** Additional chromosomal abnormalities were found in cell samples from different parts of the embryo. The No.1 embryo had a deletion and duplication in cells of ICM in one of the chromosomes, and monosomy was found in the sample of trophoctoderm No. 2. There was a duplication in cells of ICM in embryo No. 2.

**Conclusion.** The findings suggest that a biopsy of a part of the trophoctoderm may not be representative of all trophoctoderm and ICM cells. Therefore, first-trimester screening between 11 and 13 weeks gestation should be recommended for women with infertility planning to undergo ART.

**Keywords:** aneuploidy, ART, assisted reproductive technologies, ART mosaicism, pregnancy, embryo implantation, mosaic embryo, PGT-A.

**Authors' contributions.** Makarova N.P.: embryo cultivation, biopsy of embryo trophoctoderm, embryo cryopreservation, manuscript editing; Ekimov A.N.: preimplantation genetic testing by high throughput sequencing; E.V. Kulakova: manuscript editing; Drapkina Yu.S., Syssoeva A.P. Krasnova N.A.: review of relevant literature, manuscript preparation; Kalinina E.A.: manuscript editing and approval.

**Conflicts of interest.** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financing.** There was no funding for this study.

For citation: Makarova N.P., Ekimov A.N., Kulakova E.V., Drapkina Yu.S., Syssoeva A.P., Krasnova N.A., Kalinina E.A. Characteristics of embryonic mosaicism in infertility treatment with assisted reproductive technologies. *Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology*. 2021; 7: 144-151 (in Russian) <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.7.144-151>

У эмбрионов человека хромосомный мозаицизм определяется как две или более отдельных клеточных линий внутри одного эмбриона и является достаточно частым явлением, которое широко обсуждается в области вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [1]. Мозаицизм может возникать в результате митотического кроссинговера, соматических мутаций в зиготе или на ранних стадиях дробления, ошибок сегрегации при делении клеточного ядра и генотерапии [2]. Традиционно считалось, что только генетические нарушения в ооцитах или сперматозоидах ответственны за возникновение аномальных эмбрионов. Тем не менее в настоящее время доказано, что мозаицизм также возникает во время первых митотических делений [3]. Во время преимплантационного периода мозаицизм является относительно частым явлением, однако на различных стадиях развития эмбриона степень мозаицизма колеблется. Считается, что степень мозаицизма максимальна на 2–3-и сутки развития и уменьшается к 5–6-му дню после оплодотворения. Способность эмбрионов самостоятельно компенсировать мозаицизм по мере своего развития отражает возможный физиологичный характер данного явления и необходимость более тщательной интерпретации результатов преимплантационного генетического тестирования (ПГТ) [4].

В литературе описано несколько моделей, объясняющих, почему происходит уменьшение уровня мозаицизма эмбриона на стадии бластоцисты. Естественный отбор чаще работает против мозаичных эмбрионов – *in vivo* может происходить элиминация эмбриона на основании доли анеуплоидных клеток в нем на разных этапах развития. Другая модель – это модель «клонального истощения», которая описывает апоптотические изменения клеток эмбриона и элиминацию анеуплоидных клеток у эмбрионов с мозаицизмом. И третья модель описывает коррекции анеуплоидий, которые позволяют клеткам с моносомией или трисомией разделяться на клетки с эуплоидным количеством хромосом [5, 6].

При биопсии трофэктодермы уровень мозаицизма, по разным данным, составляет от 4 до 32%.

С введением высокопроизводительного секвенирования следующего поколения (NGS) теперь возможно диагностировать хромосомный мозаицизм на уровне от 20 до 80% [7]. Тем не менее в зависимости от степени выраженности мозаицизма и его локализации результат биопсии трофэктодермы эмбриона и последующая интерпретация данных ПГТ-А (преимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии) не всегда соответствует истинным показателям. Мозаицизм может затрагивать как весь эмбрион, так и отдельные его части: трофэктодерму, из которой образуется плацента, или внутриклеточную массу (ВКМ), которая дает начало эмбриону. Если мозаицизм затрагивает только ВКМ, то результат биопсии трофэктодермы у такого эмбриона будет соответствовать эуплоидному эмбриону. Если биопсия трофэктодермы была произведена у эмбриона, мозаичного по клеткам трофэктодермы, но в исследуемый образец попали эуплоидные клетки, результат ПГТ-А будет интерпретирован в пользу эуплоидного эмбриона. В таблице представлены точность диагностики различной степени и локализации мозаицизма у анализируемого эмбриона и возможные варианты диагностических ошибок. Представленные данные подтверждают, что процент мозаицизма в образце биопсии не всегда может быть прямым показателем процента мозаицизма во всем эмбрионе [8].

Несмотря на отсутствие определенного ограничения для определения мозаицизма, Международное общество преимплантационной генетической диагностики (PGDIS, 2019) предлагает эмбрион с более чем 20% анеуплоидных клеток считать мозаичным. Это означает, что эмбрионы с более низким уровнем мозаицизма следует рассматривать как нормальные (эуплоидные). Мозаичные эмбрионы отличаются по степени (низкая, средняя или высокая) и типу мозаицизма (сегментарный, одиночная хромосома, двойная хромосома или сложный мозаицизм) [9]. Результаты нескольких крупных исследований показали, что мозаичные эмбрионы могут имплантироваться и приводить к рождению здоро-

вых детей в программах ВРТ [10]. В исследовании Spinella F. et al., опубликованном в 2017 г., было показано, что исход беременности при переносе мозаичного эмбриона зависит от степени мозаицизма и типа анеуплоидии [11].

Существуют предположения, что в случае соматических клеток мозаицизм обладает благотворным влиянием на организм. Например, в нейронах мозаицизм встречается очень часто, что позволяет разнообразить их функциональный статус [12–14]. Однако чаще всего мозаицизм связывают с очевидно отрицательными последствиями, например, с повышенной частотой прерывания беременности, появлением врожденных дефектов, задержками и расстройствами развития. Чем выше уровень мозаицизма эмбриона, тем ниже вероятность имплантации и выше риск выкидыша. В научной литературе сообщается о статистически значимом снижении частоты наступления клинической беременности, имплантации и живорождении при переносе эмбрионов с высоким уровнем мозаицизма по сравнению с мозаичными эмбрионами, имеющими более низкий процент анеуплоидии [11]. Стоит отметить, что частота встречаемости мозаицизма, в отличие от частоты анеуплоидий, не зависит от возраста матери [15].

Метод ПГТ-А, впервые представленный в конце 1980-х гг., осветил более широкое понимание частоты и характеристики анеуплоидии у эмбрионов человека [16]. Технологии ПГТ-А анализируют эуплоидный/анеуплоидный статус бластоцисты после процедуры биопсии трофобласта с целью



определения и последующего переноса эуплоидного эмбриона, что увеличивает вероятность успеха программы ВРТ [17]. Изначально метод ПГТ-А проводился на единичных бластомерах эмбрионов на стадии дробления через 3 дня после оплодотворения, но результаты рандомизированных контролируемых исследований не показали улучшения показателей живорождения по сравнению с контрольной группой (без ПГТ) [18]. Согласно современным протоколам, ПГТ-А рекомендуют проводить на образцах из 5–10 клеток трофобласта, полученных от бластоцисты 5-го дня культивирования. Проведение ПГТ-А на 5-е сутки после оплодотворения рекомендовано в связи с более высоким потенциалом развития у таких эмбрионов, меньшим риском травматизации эмбриона и возможности биопсии большего числа клеток без вреда для дальнейшего развития, а также в связи с более низким уровнем мозаицизма на стадии бластоцисты [19].

Проведение ПГТ-А позволило оптимизировать выбор эмбрионов для переноса в полость матки в программах ВРТ, что, в свою очередь, привело к увеличению частоты наступления беременности, уменьшению репродуктивных потерь и снижению риска рождения детей с генетическими нарушениями [20]. Согласно утвержденным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению бесплодия, опубликованным в 2019 г., проведение ПГТ-А рекомендовано в следующих ситуациях [21]: женщинам старшего репродуктивного возраста; при наличии 2 и более самопроизвольных прерываний беременности в анамнезе; при повторных неудач-

Таблица. Влияние степени и локализации мозаицизма на интерпретацию результатов ПГТ-А [7]

Степень мозаицизма	Результат биопсии трофобласта	Точность диагностики
Полностью мозаичный эмбрион	Эуплоидный эмбрион	Неправильная интерпретация данных
	Мозаичный эмбрион	Правильная интерпретация данных
	Анеуплоидный эмбрион	Неправильная интерпретация данных
Мозаичный эмбрион по ВКМ	Эуплоидный эмбрион	Неправильная интерпретация данных
	Анеуплоидный эмбрион	Правильная интерпретация данных
Мозаичный эмбрион по трофобласту	Эуплоидный эмбрион	Неправильная интерпретация данных
	Мозаичный эмбрион	Правильная интерпретация данных
	Анеуплоидный эмбрион	Неправильная интерпретация данных
Анеуплоидный эмбрион по ВКМ (Тип 1)	Эуплоидный эмбрион	Неправильная интерпретация данных
Анеуплоидный эмбрион по трофобласту (Тип 2)	Анеуплоидный эмбрион	Правильная интерпретация данных

Условные обозначения:

-  – Анеуплоидные клетки в эмбрионе;
-  – Эуплоидные клетки в эмбрионе

ных попытках переноса «свежих» или размороженных эмбрионов; при наличии тяжелых нарушений сперматогенеза у мужчин.

### **Перенос мозаичного эмбриона в программах ВРТ**

В 2015 г. Graso E. et al. впервые сообщили о рождении здорового ребенка после переноса мозаичного эмбриона [10]. Результаты последующих исследований показали, что перенос мозаичных эмбрионов приводит к снижению частоты имплантации и повышению риска самопроизвольного прерывания беременности по сравнению с переносом euploidных эмбрионов [22]. Согласно данным PGDIS, в программе ВРТ для переноса более предпочтительны эмбрионы с моносомией, чем с трисомией, даже учитывая, что такие эмбрионы могут быть нежизнеспособны (кроме 45, X). При переносе эмбриона с трисомией по одной хромосоме необходимо учитывать степень мозаицизма и специфику самой хромосомы. Для переноса наиболее предпочтительными кандидатами служат эмбрионы с трисомией по хромосомам 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 19, 20, 22, X, Y. Беременность, наступившая после переноса бластоцисты с трисомией по хромосомам 2, 7, 16, ассоциирована с повышенным риском задержки внутриутробного развития плода. В программе ВРТ не рекомендовано выполнять перенос эмбрионов с мозаичной трисомией по хромосомам 13 (синдром Патау), 18 (синдром Эдвардса) и 21 (синдром Дауна) [23]. Стоит отметить, что мозаичные эмбрионы могут быть единственными эмбрионами, доступными для переноса. Несмотря на то что в исследовании Munne et al. было показано, что частота наступления беременности отличается при переносе euploidного и мозаичного эмбрионов (63 и 37% соответственно); эмбрионы с содержанием мозаичных клеток, не превышающим 50%, имеют более благоприятный прогноз в отношении наступления и развития беременности, чем эмбрионы с высоким уровнем мозаицизма [24, 25]. Тем не менее описаны и обратные ситуации, когда при переносе euploidного эмбриона по результатам ПГТ-А беременность прерывалась на ранних сроках или заканчивалась рождением ребенка с хромосомными нарушениями [26]. Таким образом, стоит подчеркнуть, что к результату ПГТ-А стоит относиться крайне дифференцированно, так как образец клеток, полученный при биопсии трофэктодермы, не всегда соответствует всему эмбриону.

### **Материалы и методы**

На базе отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им проф. Б.В. Леонова и лаборатории молекулярно-генетических методов было проведено исследование, включающее анализ трофэктодермы 17 эмбрионов, не подлежащих переносу в полость матки, с помощью метода NGS. Оплодотворение ооцитов проводилось методом ИКСИ, после чего оплодотворенные клетки были перенесены в культуральную среду CSCM (Irvine Sc., США) с целью дальнейшего культивирования. Оценку наступления стадии двух прону-

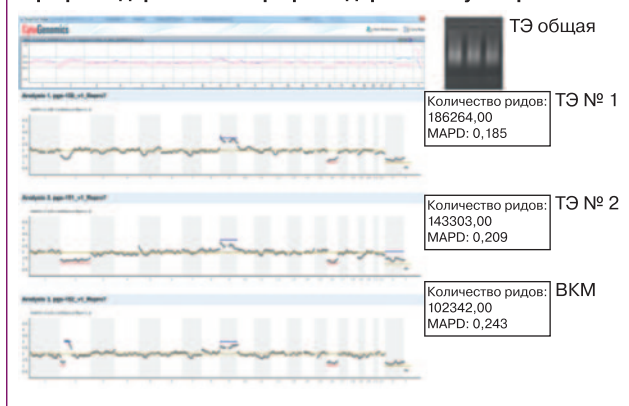
клеусов (формирования зиготы) проводили через 14–16 ч после оплодотворения. Все этапы культивирования проводили в мультигазовых инкубаторах COOK (Ирландия) в каплях по 25 мкл под маслом (Irvine Sc., USA). Среда CSCM (Irvine Sc., США) не меняли в течение 5 суток культивирования. На 5-е сутки после оплодотворения была проведена процедура биопсии трофэктодермы с последующей криоконсервацией биопсированных эмбрионов. Полученные клетки трофэктодермы были перенесены в пробирки типа Эппендорф, содержащие лизирующий буфер, для проведения молекулярно-генетической диагностики исследуемых образцов. Процедура ПГТ-А состояла из нескольких этапов: на первом этапе были проведены полногеномная амплификация и подготовка библиотеки для нанесения на чип. Для создания библиотеки к фрагментам ДНК присоединялись специальные молекулярные метки-баркоды, уникальные для каждого образца в постановке. Далее было выполнено ионное полупроводниковое секвенирование с последующим биоинформатическим анализом результатов и подготовкой заключения на основании полученных данных согласно стандартной методике ПГТ-А [27].

### **Результаты**

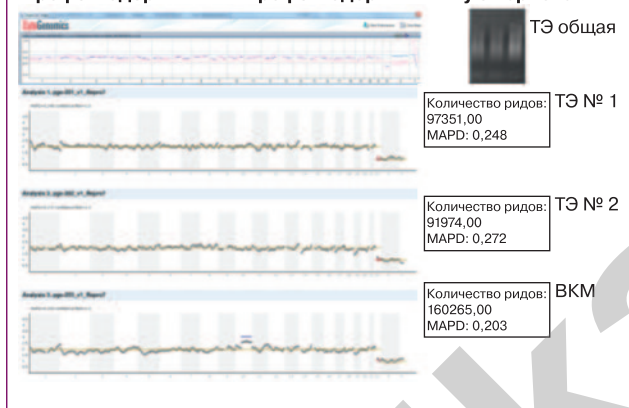
Согласно результатам, полученным в ходе проведения NGS, было обнаружено, что все эмбрионы, включенные в настоящее исследование, соответствовали анеуплоидным и не были рекомендованы к переносу. После получения разрешения супружеской пары на использование эмбрионов в научных целях и подписания необходимых заявлений анеуплоидные эмбрионы в условиях эмбриологической лаборатории были разделены с помощью лазера и микроманипулятора на 3 части: ВКМ, образец трофэктодермы № 1, образец трофэктодермы № 2. Полученные клетки, соответствующие трем частям анализируемых анеуплоидных эмбрионов, согласно результатам ранее проведенной общей биопсии трофэктодермы, были отправлены на повторный анализ с помощью метода NGS. У 15 эмбрионов хромосомный набор в исходном образце клеток трофэктодермы совпадал с образцами клеток, полученными при разделении эмбриона на три части. Однако у двух эмбрионов были обнаружены дополнительные хромосомные нарушения в образце клеток из ВКМ и трофэктодермы № 1 и № 2, представленные на рисунках 1 и 2. У эмбриона № 1 при проведении NGS были обнаружены дополнительные хромосомные нарушения, не детектированные в общем образце клеток трофэктодермы (рис. 1). Клетки из ВКМ у эмбриона № 1 содержали делецию и дупликацию по одной из хромосом, а в образце трофэктодермы № 2 была обнаружена моносомия.

В образце клеток ВКМ, полученном у эмбриона № 2, были также обнаружены дополнительные хромосомные перестройки, не описанные в результатах NGS клеток общей трофэктодермы. По одной из хромосом была обнаружена дупликация, представленная на рисунке 2.

**Рис. 1. Результат высокопроизводительного секвенирования (NGS) образца клеток ВКМ, трофэктодермы общей, трофэктодермы № 1 и трофэктодермы № 2 у эмбриона № 1**



**Рис. 2. Результат высокопроизводительного секвенирования (NGS) образца клеток ВКМ, трофэктодермы общей, трофэктодермы № 1 и трофэктодермы № 2 у эмбриона № 2**



Полученные данные еще раз подтверждают, что биопсия части трофэктодермы может быть нерепрезентативной относительно всех клеток трофэктодермы и ВКМ. Таким образом, несмотря на то, что в настоящее время разработаны рекомендации по оптимизации выбора мозаичных эмбрионов для переноса в программах ВРТ, до сих пор остается ряд нерешенных вопросов. Один из них – адекватная и полная диагностика мозаицизма в эмбрионах. Ограничения в диагностике связаны с методами получения биологического материала для генетического анализа, который зачастую не позволяет достоверно оценить наличие мозаицизма у анализируемого эмбриона.

### Обсуждение

Одна из основных причин неправильной интерпретации результатов ПГТ-А заключается в наличии хромосомного мозаицизма. Хромосомный мозаицизм может встречаться у эмбрионов во время преимплантационного периода, однако в течение первых трех дней культивирования частота появления таких ошибок наиболее высокая, и по мере дальнейшего развития эмбрион способен самостоятельно компенсировать данные нарушения [2].

Наличие мозаицизма в клетках эмбриона может быть обнаружено с помощью флуоресцентной

гибридизации *in situ*, полимеразной цепной реакции, сравнительной геномной гибридной с использованием микроматриц (a-CGH) и методом NGS [28]. Технология NGS является наиболее специфичной и чувствительной методикой в отношении диагностики мозаицизма в эмбрионе, так как частота выявления данных нарушений при проведении NGS наиболее высокая по сравнению с a-CGH и составляет 10 и 3% соответственно [29]. Учитывая, что в литературе описаны случаи рождения детей со сбалансированным кариотипом после переноса мозаичных эмбрионов в программе ВРТ, наличие менее 50% анеуплоидных клеток при биопсии трофэктодермы у эмбриона на ранних стадиях преимплантационного развития имеет благоприятный прогноз в отношении дальнейшего наступления беременности [1, 10]. Однако существуют обратные ситуации, когда при более детальном анализе в эмбрионе могут быть обнаружены дополнительные хромосомные нарушения, влияющие на потенциал имплантации и дальнейшего развития эмбриона. Для снижения риска ложноотрицательных результатов проведение ПГТ-А рекомендовано выполнять на 5-е сутки после оплодотворения, когда частота выявления мозаицизма минимальна вследствие естественной элиминации эмбрионов с хромосомными aberrациями. Несмотря на то что не разработана методика, позволяющая решить проблему мозаицизма, активно изучаются дополнительные, перспективные маркеры, позволяющие повысить точность диагностики хромосомных аномалий у эмбриона при помощи ПГТ-А. Согласно результатам исследований данные, полученные при кариотипировании образцов внутриполостной жидкости blastocисты и клеток трофэктодермы, совпадают. Фракция внеклеточной ДНК, идентифицированной во внутриполостной жидкости blastocисты, позволяет проводить тестирование моногенных мутаций и, возможно, позволит в будущем решить ряд вопросов диагностики хромосомного мозаицизма [30, 31]. В исследовании Palini et al. (2013) было продемонстрировано, что во внутриполостную жидкость blastocисты внеклеточная ДНК секретируется из клеток, подвергающихся апоптозу. Тем не менее неизвестно, попадает ли во внутриполостную жидкость ДНК всех клеток (и с зуплоидным, и с анеуплоидным набором хромосом) и зависит ли секреция внеклеточной ДНК от локализации клеток (ВКМ или трофэктодерма) [32]. Таким образом, вопрос применения внутриполостной жидкости blastocисты в качестве нового источника материала для анализа хромосомного статуса эмбриона остается перспективным, но требует дальнейших исследований.

В 2021 г. Shitara et al. опубликовали результаты исследования по изучению внеклеточной ДНК в культуральной среде в качестве биомаркера хромосомного набора эмбриона. В исследовании были включены 20 криоконсервированных blastocист, полученных от 12 супружеских пар. На 6-е сутки после оплодотворения была выполнена биопсия трофэктодермы эмбриона. У эмбрионов на 6-е сутки была собрана культуральная среда для

анализа внеклеточной ДНК методом NGS. После биопсии эмбрионы культивировались до 10 суток с последующим проведением NGS на 5 образцах 8-дневных эмбрионов, 5 образцах 9-дневных эмбрионов и 10 образцах 10-дневных эмбрионов. В зависимости от результатов биопсии трофэктодермы, анализа внеклеточной ДНК и полногеномной амплификации эмбрионов, культивируемых более 6 суток, все образцы были разделены на эуплоидные (группа I), анеуплоидные (группа II) и мозаичные эмбрионы (группа III). Было обнаружено, что чувствительность диагностики анеуплоидии неинвазивным методом определения внеклеточной ДНК в культуральной среде эмбриона составляет 100%, специфичность – 87,5%, что превышало аналогичные показатели при тестировании трофэктодермы (чувствительность – 87,5%, специфичность – 77,8%) [33]. Таким образом, определение внеклеточной ДНК в культуральной среде для диагностики хромосомного статуса эмбриона является высокоточной, неинвазивной и многообещающей технологией, требующей дальнейшего изучения.

Учитывая, что ПГТ-А в настоящий момент широко применяется и является отработанным, автоматизируемым методом, сочетающим в себе все основные качества наиболее объективных способов диагностики, правильная интерпретация полученных данных крайне важна. Стоит подчеркнуть, что в программах ВРТ при переносе эуплоидной бластоцисты и наступлении развивающейся беременности рекомендовано обязательное проведение скрининга I триместра на сроке 11–13 недель гестации. Скрининг I триместра включает в себя измерение толщины воротникового пространства с помощью аппарата УЗИ и исследование биохимических маркеров крови (хорионического гонадотропина, PAPP-A) с последующим индивидуальным анализом риска рождения ребенка с хромосомными нарушениями [34]. Пациенткам с высоким риском анеуплоидии плода по данным скрининга I триместра рекомендованы консультация врача-генетика и проведение пренатальной диагностики, включающей биопсию ворсин хориона или амниоцентез в зависимости от срока гестации. Для исключения анеуплоидии плода супружеской паре может быть дополнительно предложено проведение неинвазивного пренатального скрининга.

Результаты данного исследования показали, что хромосомный набор клеток, полученных из разных структур эмбриона, может отличаться. Эмбрионы с хромосомным мозаицизмом, с одной стороны, способны приводить к рождению здоровых детей со сбалансированным кариотипом, с другой стороны, в зависимости от степени и типа мозаицизма могут стать причиной потери беременности или рождения детей с пороками развития, задержкой роста или умственной отсталостью [35].

## Заключение

Таким образом, проведение ПГТ-А не всегда гарантирует перенос эуплоидной бластоцисты, даже несмотря на неоспоримые преимущества данного

метода в профилактике хромосомной патологии. Полученные данные подтверждают, что биопсия части трофэктодермы может быть нерепрезентативной относительно всех клеток трофэктодермы и ВКМ.

В настоящий момент активно изучаются дополнительные маркеры и методы диагностики мозаичных эмбрионов; тем не менее, обязательное проведение пренатального скрининга I триместра у пациенток с беременностью, наступившей после переноса эуплоидного эмбриона по результатам ПГТ-А, позволяет не только получить информацию об аномальной беременности, но и подготовиться к своевременной хирургической коррекции выявленных пороков.

## Литература/References

1. McCoy R.C. Mosaicism in preimplantation human embryos: when chromosomal abnormalities are the norm. *Trends Genet.* 2017; 33(7): 448-63. <https://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2017.04.001>.
2. Taylor T.H., Gitlin S.A., Patrick J.L., Crain J.L., Wilson J.M., Griffin D.K. The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. *Hum. Reprod. Update.* 2014; 20(4): 571-81. <https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmu016>.
3. Capalbo A., Bono S., Spizzichino L., Biricik A., Baldi M., Colamaria S. et al. Sequential comprehensive chromosome analysis on polar bodies, blastomeres and trophoblast: insights into female meiotic errors and chromosomal segregation in the preimplantation window of embryo development. *Hum. Reprod.* 2013; 28(2): 509-18. <https://dx.doi.org/10.1093/humrep/des394>.
4. Munné S., Blazek J., Large M., Martinez-Ortiz P.A., Nisson H., Liu E. et al. Detailed investigation into the cytogenetic constitution and pregnancy outcome of replacing mosaic blastocysts detected with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil. Steril.* 2017; 108(1): 62-71. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.05.002>.
5. Popovic M., Dhaenens L., Boel A., Menten B., Heindryckx B. Chromosomal mosaicism in human blastocysts: the ultimate diagnostic dilemma. *Hum. Reprod. Update.* 2020; 26(3): 313-34. <https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmz050>. Erratum in: *Hum. Reprod. Update.* 2020; 26(3): 450-1.
6. Малышева О.В., Бичева Н.К., Гзгзян А.М., Глотов О.С., Кинунен А.А., Лобенская А.Ю., Мекина И.Д., Полякова И.В., Пуупо И.Л., Саифитдинова А.Ф., Шербак С.Г., Коган И.Ю. Технологические платформы преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии: сравнительная эффективность диагностики хромосомной патологии. *Акушерство и гинекология.* 2020; 4: 65-71. [Malysheva O.V., Bichevaya N.K., Gzgyan A.M., Glotov O.S., Kinunen A.A., Lobenskaya A.Yu., Mekina I.D., Polyakova I.V., Puppo I.L., Saifitdinova A.F., Shcherbak S.G., Kogan I.Yu. Technological platforms for preimplantation genetic testing for aneuploidy: comparative effectiveness of diagnosing chromosomal abnormalities. *Obstetrics and Gynecology.* 2020; 4: 65-71. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.4.65-71>.
7. Vera-Rodriguez M., Rubio C. Assessing the true incidence of mosaicism in preimplantation embryos. *Fertil. Steril.* 2017; 107(5): 1107-12. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.03.019>.
8. Chuang T.H., Chang Y.P., Lee M.J., Wang H.L., Lai H.H., Chen S.U. The incidence of mosaicism for individual chromosome in human blastocysts is correlated with chromosome length. *Front. Genet.* 2021; 11: 565348. <https://dx.doi.org/10.3389/fgene.2020.565348>.
9. Preimplantation Genetic Diagnosis International Society. PGDIS position statement on chromosome mosaicism and preimplantation aneuploidy testing at the blastocyst stage. Available at: <https://www.pgdis-position-statement-chromosome-mosaicism-testing-date>: 2016. Accessed April 5, 2017.

10. Greco E., Minasi M.G., Fiorentino F. Healthy babies after intrauterine transfer of mosaic aneuploid blastocysts. *N. Engl. J. Med.* 2015; 373(21): 2089-90. <https://dx.doi.org/10.1056/NEJMc1500421>.
11. Spinella F., Fiorentino F., Bircik A., Bono S., Ruberti A., Cotroneo E. et al. Extent of chromosomal mosaicism influences the clinical outcome of in vitro fertilization treatments. *Fertil. Steril.* 2018; 109(1): 77-83. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.09.025>.
12. Besser A.G., Mounis E.L. Counselling considerations for chromosomal mosaicism detected by preimplantation genetic screening. *Reprod. Biomed. Online.* 2017; 34(4): 369-74. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.01.003>.
13. Карандашева К.О., Пащенко М.С., Демина Н.А., Акимова И.А., Макиенко О.Н., Петухова М.С., Бессонова Л.А., Анисимова И.В., Танас А.С., Заletaev Д.В., Стрельников В.В., Кузнецова Е.Б. Соматический мозаицизм при нейрофиброматозе первого типа. Медицинская генетика. 2019; 18(5): 28-36. [Karandasheva K.O., Paschenko M.S., Demina N.A., Akimova I.A., Makienko O.N., Petukhova M.S., Bessonova L.A., Anisimova I.V., Tanas A.S., Zaletaev D.V., Strelnikov V.V., Kuznetsova E.B. Somatic mosaicism in first type neurofibromatosis. *Medical genetics.* 2019; 18(5): 28-36. (in Russian)].
14. D'Gama A.M., Walsh C.A. Somatic mosaicism and neurodevelopmental disease. *Nat. Neurosci.* 2018; 21(11): 1504-14. <https://dx.doi.org/10.1038/s41593-018-0257-3>.
15. Sekhon L., Feuerstein J., Nazem T.G., Briton-Jones C., Lee J.A., Grunfeld L. et al. The incidence of mosaicism is not associated with advanced maternal age or diminished ovarian reserve. *Fertil. Steril.* 2017; 108(3): e217. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.07.643>.
16. Александрова Н.В., Шубина Е.С., Екимов А.Н., Кодылева Т.А., Мукосей И.С., Макарова Н.П., Кулакова Е.В., Левков Л.А., Барков И.Ю., Трофимов Д.Ю., Сухих Г.Т. Сравнение результатов преимплантационного генетического скрининга, проведенного методами CGH и NGS. Молекулярная биология. 2017; 51(2): 308-13. [Alexandrova N.V., Shubina E.S., Ekimov A.N., Kodyleva T.A., Mukosey I.S., Makarova N.P., Kulakova E.V., Levkov L.A., Barkov I.Yu., Trofimov D.Yu., Sukhikh G.T. Comparison of CGH and NGS preimplantation genetic screening results. *Molecular biology.* 2017; 51(2): 308-13. (in Russian)].
17. Mastenbroek S., Twisk M., van der Veen F., Repping S. Preimplantation genetic screening: a systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum. Reprod. Update.* 2011; 17(4): 454-66. <https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmr003>. Erratum in: *Hum. Reprod. Update.* 2013; 19(2): 206.
18. Adler A., Lee H.L., McCulloh D.H., Ampeloquio E., Clarke-Williams M., Wertz B.H., Grifo J. Blastocyst culture selects for euploid embryos: comparison of blastomere and trophoctoderm biopsies. *Reprod. Biomed. Online.* 2014; 28(4): 485-91. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.11.018>.
19. Краснопольская К.В., Сесина Н.И., Воскобоева Е.Ю. Использование различных методов биопсии эмбриона для преимплантационного генетического тестирования (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2019; 25(6): 44-50. [Krasnopol'skaya K.V., Sesina N.I., Voskoboeva E. Yu. Using various methods of embryo biopsy for preimplantation genetic testing (literature review). *Reproduction problems.* 2019; 25(6): 44-50. (in Russian)].
20. Коротченко О.Е., Сыркашева А.Г., Долгушина Н.В., Кулакова Е.В., Докшуккина А.А., Екимов А.Н. Эффективность преимплантационного генетического скрининга у пациенток с привычным невынашиванием беременности и бесплодием. *Акушерство и гинекология.* 2018; 3: 64-9. [Korotchenko O.E., Syrkasheva A.G., Dolgushina N.V., Kulakova E.V., Dokshukkina A.A., Ekimov A.N. The effectiveness of preimplantation genetic screening in patients with recurrent miscarriage and infertility. *Obstetrics and gynecology.* 2018; 3: 64-9. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.3.64-69>.
21. Клинические рекомендации (протокол лечения). Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению), разработанные в соответствии со статьей 76 Федерального закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» – письмо МЗРФ от 05.03.2019 г. №15-4/ и /2-1913. [Clinical guidelines (treatment protocol) "Female infertility (modern approaches to diagnostics and treatment)", developed in accordance with Article 76 of the Federal Law of November 21, 2011 No. 323-FL "Protecting the health of citizens in the Russian Federation" – Letter of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation dated 05.03.2019 No. 15-4 / and / 2-1913. (in Russian)].
22. Abhari S., Kawwass J.F. Pregnancy and Neonatal Outcomes after Transfer of Mosaic Embryos: A Review. *J Clin Med.* 2021 Mar 27; 10(7): 1369. <https://dx.doi.org/10.3390/jcm10071369>.
23. Gleicher N., Albertini D.F., Barad D.H., Homer H., Modi D., Murtinger M. et al. The 2019 PGDIS position statement on transfer of mosaic embryos within a context of new information on PGT-A. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2020; 18(1): 57. <https://dx.doi.org/10.1186/s12958-020-00616-w>.
24. Viotti M., Victor A.R., Barnes F.L., Zouves C.G., Besser A.G., Grifo J.A. et al. Using outcome data from one thousand mosaic embryo transfers to formulate an embryo ranking system for clinical use. *Fertil. Steril.* 2021; 115(5): 1212-24. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.11.041>.
25. Munné S., Spinella F., Grifo J., Zhang J., Beltran M.P., Fragouli E., Fiorentino F. Clinical outcomes after the transfer of blastocysts characterized as mosaic by high resolution Next Generation Sequencing- further insights. *Eur. J. Med. Genet.* 2020; 63(2): 103741. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2019.103741>.
26. Maxwell S.M., Colls P., Hodes-Wertz B., McCulloh D.H., McCaffrey C., Wells D. et al. Why do euploid embryos miscarry? A case-control study comparing the rate of aneuploidy within presumed euploid embryos that resulted in miscarriage or live birth using next-generation sequencing. *Fertil. Steril.* 2016; 106(6): 1414-9. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.08.017>.
27. Gui B., Zhang Y., Liang B., Kwok Y.K.Y., Lui W.T., Yeung Q.S.Y. et al. Semiconductor sequencing for preimplantation genetic testing for aneuploidy. *J. Vis. Exp.* 2019 Aug 25; 150. <https://dx.doi.org/10.3791/59273>.
28. Мальшеева О.В., Бичева Н.К., Гзгзян А.М., Готов О.С., Кинунен А.А., Лобенская А.Ю., Мекина И.Д., Полякова И.В., Пуппо И.Л., Сайфитдинова А.Ф., Шербак С.Г., Коган И.Ю. Технологические платформы преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии: сравнительная эффективность диагностики хромосомной патологии. *Акушерство и гинекология.* 2020; 4: 65-71. [Malysheva O.V., Bicheva N.K., Gzgyan A.M., Glotov O.S., Kinunen A.A., Lobenskaya A.Yu., Mekina I.D., Polyakova I.V., Pупpo I.L., Sayfiddinova A.F., Shcherbak S.G., Kogan I.Yu. Technological platforms for preimplantation genetic testing for aneuploidy: comparative efficiency of diagnosis of chromosomal pathology. *Obstetrics and gynecology.* 2020; 4: 65-71. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.4.65-71>.
29. Sachdev N.M., McCulloh D.H., Kramer Y., Keefe D., Grifo J.A. The reproducibility of trophoctoderm biopsies in euploid, aneuploid, and mosaic embryos using independently verified next-generation sequencing (NGS): a pilot study. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2020; 37(3): 559-71. <https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-01720-x>.
30. Скрябин Н.А., Лебедев И.Н., Артохова В.Г., Жигалина Д.И., Степанов И.А., Кривошекова Г.В., Светлаков А.В. Молекулярное каротиблирование внеклеточной ДНК из жидкости бластоциелы как основа неинвазивного преимплантационного генетического скрининга анеуплоидий. *Генетика.* 2015; 51(11): 1301-7. [Skryabin N.A., Lebedev I.N., Artyukhova V.G., Zhigalina D.I. et al. Molecular karyotyping of extracellular DNA from blastocelial fluid for non-invasive preimplantation genetic screening for aneuploidy. *Genetics.* 2015; 51(11): 1301-7. (in Russian)].
31. Qasemi M., Mahdian R., Amidi F. Cell-free DNA discoveries in human reproductive medicine: providing a new tool for biomarker and genetic assays in ART. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2021; 38(2): 277-88. <https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-02038-4>.
32. Palini S., Galluzzi L., De Stefani S., Bianchi M., Wells D., Magnani M., Bulletti C. Genomic DNA in human blastocoele fluid. *Reprod. Biomed. Online.* 2013; 26(6): 603-10. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.02.012>.
33. Shitara A., Takahashi K., Goto M., Takahashi H., Iwasawa T., Onodera Y. et al. Cell-free DNA in spent culture medium effectively reflects the chromosomal status of embryos following culturing beyond implantation

compared to trophoctoderm biopsy. PLoS One. 2021; 16(2): e0246438. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0246438>.

34. Шмаков Р.Г., Баев О.Р., Кан Н.Е., Пекарев О.Г., Полушкина Е.С., Клименченко Н.И. Ведение физиологической беременности: клинические рекомендации. *Акушерство и гинекология*. 2016; (12, Протоколы.): 20-39. [Shmakov R.G., Baev O.R., Kan N.E., Pekarev O.G., Polushkina E.S., Klimenchenko N.I. Physiological pregnancy management: clinical guidelines. *Obstetrics and gynecology*. 2016; (12. Protocols.): 20-39. (in Russian)].

35. 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. One hundred mosaic embryos transferred prospectively in a single clinic: exploring when and why they result in healthy pregnancies. *Fertil Steril*. 2019; 111(2): 280-93. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.10.019>.

Поступила 18.03.2021

Принята в печать 29.03.2021

Received 18.03.2021

Accepted 29.03.2021

#### Сведения об авторах:

**Макарова Наталья Петровна**, д.б.н., в.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. E-mail: np\_makarova@oparina4.ru. ORCID: 0000-0003-8922-2878. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

**Екимов Алексей Николаевич**, врач-лабораторный генетик лаборатории молекулярно-генетических методов, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. E-mail: a\_ekimov@oparina4.ru. ORCID: 0000-0001-5029-0462. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

**Кулакова Елена Владимировна**, к.м.н., с.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. E-mail: e\_kulakova@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-4433-4163. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

**Драпкина Юлия Сергеевна**, к.м.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. E-mail: yu\_drapkina@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-0545-1607. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

**Сысоева Анастасия Павловна**, эмбриолог отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. E-mail: sysoeva.a.p@gmail.com. ORCID: 0000-0002-6502-4498. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

**Краснова Наталья Александровна**, к.м.н., ассистент кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» МЗ РФ; акушер-гинеколог, репродуктолог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. E-mail: dr.krasnova@rambler.ru. ORCID: 0000-0001-8636-2560. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

**Калинина Елена Анатольевна**, д.м.н., профессор, заведующая отделением вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. E-mail: e\_kalinina@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-8922-2878. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

#### Authors' information:

**Natalia P. Makarova**, Dr. Biol. Sci., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: np\_makarova@oparina4.ru. ORCID: 0000-0003-8922-2878. 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

**Alexey N. Ekimov**, Clinical Geneticist at the Molecular Genetics Laboratory, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: a\_ekimov@oparina4.ru. ORCID: 0000-0001-5029-0462. 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

**Elena V. Kulakova**, Ph.D., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: e\_kulakova@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-4433-4163. 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

**Yulia S. Drapkina**, Ph.D., Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, Professor B.V. Leonov, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: yu\_drapkina@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-0545-1607. 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

**Anastasia P. Sysoeva**, Embryologist at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: sysoeva.a.p@gmail.com. ORCID: 0000-0002-6502-4498. 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

**Natalya A. Krasnova**, Ph.D., Teaching Assistant at the Department of Obstetrics, Gynecology, Perinatology and Reproductology, I.M. Sechenov First MSMU, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Obstetrician-Gynecologist, Reproductologist at the V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: dr.krasnova@rambler.ru. ORCID: 0000-0001-8636-2560. 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

**Elena A. Kalinina**, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: e\_kalinina@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-8922-2878. 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.