

Байқошқарова С.Б.¹,
Сабырбек Ж.Б.²,
Садыбекова Л.С.³,
Махамбетова А.М.⁴,
Уморбекова Г.А.¹,
Құрманалиева Н.Г.¹

¹Клиника репродукции человека «Экомед», Казахстан, г. Алматы

²Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

³Таразский государственный университет им. М.Х. Дулати, Казахстан, г. Тараз

⁴Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Казахстан, г. Астана

Морфологические характеристики раннего эмбриогенеза триплоидных эмбрионов человека

Baikoshkarova S.B.¹,
Sabyrbek Zh.B.²,
Sadybekova L.S.³,
Mahambetova A.M.⁴,
Umorbekova G.A.¹,
Kurmanaliyeva N.G.¹

¹Human Reproduction clinic "Ecomed", Kazakhstan, Almaty

²Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

³Taraz State University named after M.H. Dulati, Kazakhstan, Taraz

⁴Eurasian National University named after L.N. Gumilev, Kazakhstan, Astana

Morphological characteristics of early embryogenesis of human triploid embryos

Байқошқарова С.Б.¹,
Сабырбек Ж.Б.²,
Садыбекова Л.С.³,
Махамбетова А.М.⁴,
Уморбекова Г.А.¹,
Құрманалиева Н.Г.¹

¹«Экомед» адам ұрпағын өрбіту емханасы, Қазақстан, Алматы қ.

²Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

³М.Х. Дулати атындағы Тараз мемлекеттік университеті, Қазақстан, Тараз қ.

⁴Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қазақстан, Астана қ.

Адамның триплоидты эмбриондарының ерте эмбриогенезіндегі морфологиялық ерекшеліктері

В программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) часто можно наблюдать появление триплоидных зигот. Есть три основных механизма образования триплоидных эмбрионов: диандрия, дигиния, диспермия. Морфокинетические и генетические особенности триплоидных эмбрионов до сих пор неизвестны. Онтогенетический путь развития таких эмбрионов бывает разным и зависит как от механизма оплодотворения, так и самого потенциала эмбрионов. В статье рассматриваются морфологические характеристики раннего эмбриогенеза триплоидных эмбрионов в сравнении с диплоидными эмбрионами в программах ВРТ. Для проведения этих исследований были проанализированы 75 циклов предимплантационной генетической диагностики у 75 супружеских пар, прошедших различные программы ВРТ. Изучение морфологических характеристик развития 183 триплоидных зигот *in vitro* условиях показало, что существует положительная корреляция между частотой аномального оплодотворения и возрастом женщин, а онтогенетический путь развития триплоидных эмбрионов человека не отличается от раннего эмбрионального развития диплоидных эмбрионов на стадии дробления; частота бластуляции на пятые сутки культивирования эмбрионов значительно выше в группе диплоидных эмбрионов человека.

Ключевые слова: искусственное оплодотворение, эмбрион, генетическая диагностика, дигиния, диандрия, диспермия, триплоидия.

In the programs of assisted reproductive technology (ART) is often possible to observe the appearance of triploid zygotes. There are three main mechanisms for the formation of triploid embryos: diandra, diginiya, dispermy. Morphokinetic and genetic features of triploid embryos are still unknown. The ontogenetic development path of these embryos can be different. It depends on mechanism of fertilization and potential of embryos. This article deals with the morphological characteristics of early embryogenesis of triploid embryos compared with diploid in ART programs.

To conduct these studies, 75 cycles of preimplantation genetic diagnosis were analyzed in 75 couples who had undergone various ART programs. Morphological characteristics of development of 183 triploid zygotes in *in vitro* conditions were studied and the following results were obtained: a comparative evaluation of oocyte fertilization in women of different age range showed a positive correlation between the frequency of abnormal fertilization and the age of women. In particular, a pronounced dependence of the frequency of formation of triploids was found depending on the age of the patients; The ontogenetic path of development of human triploid embryos does not differ from the early embryonic development of diploid embryos at the cleavage stage; The frequency of blastulation on the fifth day of embryo cultivation is significantly higher in the group of diploid human embryos.

Key words: *in vitro* fertilization, embryo, genetic diagnosis, diandra, diginiya, dispermy, triploidy.

Қосалқы репродуктивтік технологиялардың (ҚРТ) бағдарламаларында триплоидты зиготалардың пайда болуын жиі бақылауға болады. Триплоидты эмбриондардың пайда болуының үш негізгі механизмі бар: диандрия, дигиния, диспермия. Триплоидты эмбриондардың морфокинетикалық және генетикалық ерекшеліктері әлі күнге дейін белгісіз. Мұндай эмбриондардың онтогенетикалық даму жолы ұрықтану механизміне және эмбрионның потенциалына байланысты әртүрлі болады. Мақалада ҚРТ бағдарламаларында триплоидты эмбриондардың ерте эмбриогенезіндегі морфологиялық ерекшеліктері диплоидты эмбриондармен салыстырмалы түрде қарастырылған. Бұл зерттеулерді өткізу мақсатында әртүрлі ҚРТ бағдарламаларын қолданып емделген 75 ерлі-зайыпты жұптың имплантацияға дейінгі генетикалық диагностика циклдары талданды. *In vitro* жағдайында 183 триплоидты зиготалардың дамуының морфологиялық сипаттамалары зерттеліп, келесі нәтижелер шығарылды: әртүрлі жас диапазонындағы әйелдердің ооциттерінің ұрықтануының салыстырмалы бағалауы аномальді ұрықтану жиілігі мен әйелдің жасы арасында оң корреляция бар екенін көрсетті. Сонымен, триплоидтардың түзілу жиілігі пациенттің жасына аса байланысты екені анықталды; адамдардың триплоидты эмбриондарының онтогенетикалық даму жолы бөліну сатысындағы диплоидты эмбриондардың ерте эмбрионалдық дамуынан ерекшеленбейді; эмбриондардың өсуінің бесінші тәулігіндегі бластуляция жиілігі адамдардың диплоидты эмбриондары тобында айтарлықтай жоғары болып келеді.

Түйін сөздер: қолдан ұрықтандыру, эмбрион, генетикалық диагностика, дигиния, диандрия, диспермия, триплоидия.

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ
РАННЕГО
ЭМБРИОГЕНЕЗА
ТРИПЛОИДНЫХ
ЭМБРИОНОВ
ЧЕЛОВЕКА**

Введение

Триплоидия – это одна из наиболее частых спонтанных аномалий хромосомного набора в процессе эмбриогенеза человека. У человека подавляющее большинство триплоидных эмбрионов гибнут в начале второго месяца внутриутробного развития (до 8-й недели беременности). Примерно 22,6% всех спонтанных выкидышей обусловлены полиплоидией. Всего лишь около 1% плодов развиваются до шестого – седьмого месяца развития. И чрезвычайно редкий случай – это рождение живого ребенка с триплоидией. Однако всего через несколько часов после рождения такие дети погибают [1].

Крайне редко наблюдаемые при мертворождениях триплоидии составляют пятую по частоте хромосомную аномалию в материале выкидыше [2]. В зависимости от соотношения половых хромосом может быть 3 варианта триплоидий: 69XYU (самая редкая), 69, XXX и 69, XXY (самая частая). Анализ полового хроматина показывает, что при конфигурации 69, XXX чаще всего обнаруживается только одна глыбка хроматина, а при конфигурации 69, XXY чаще всего половой хроматин не обнаруживается [2].

Есть различные механизмы, приводящие к развитию триплоидии: диандрия, дигиния, диспермия [2]. С помощью специальных методов (хромосомные маркеры, антигены тканевой совместимости) удалось установить относительную роль каждого из этих механизмов в развитии триплоидии у зародыша. Оказалось, что на 50 случаев наблюдений триплоидия была следствием дигинии в 11 случаях (22%), диандрии либо диспермии – в 20 случаях (40%), диспермии – в 18 случаях (36%) [3].

Дигиния – это один из видов триплоидии. По общепринятой классификации – триплоидия второго типа, или гипергиническая триплоидия. Для нее характерен избыток материнских хромосом в кариотипе плода [2]. Избыток материнских хромосом в кариотипе может образоваться из-за того, что в оплодотворенную яйцеклетку оказывается вовлеченным полярное тельце.

Полярные тельца – это крохотные образования на поверхности яйцеклеток, также содержащие гаплоидный набор хромосом. Проникновение такого образования внутрь оплодотворенной яйцеклетки может сказаться на потомстве, передав ему лишний хромосомный комплект.

Проникновение в двуядерный ооцит одиночного спермия будет давать дигинию, триплоидный эмбрион [2].

Диспермия – оплодотворение яйцеклетки двумя мужскими гаметами. В случаях же диспермии, когда дополнительный набор хромосом пришел от отца [2], зародыш не развивается, а происходит кистозное разрастание ворсинок хориона (производных трофобласта), называемое пузырьным заносом (*hydattidiformmole* или «гидатидиформный моль»). Пузырный занос – это продукт зачатия, при котором не происходит нормального развития эмбриона, а ворсины хориона разрастаются в виде пузырей, наполненных жидкостью [3]. Неполный пузырьный занос вызван триплоидией в результате оплодотворения яйцеклетки двумя сперматозоидами (диспермия) с задержкой гаплоидного набора материнских хромосом. Клетки концептуса содержат один гаплоидный набор материнских хромосом и диплоидный набор отцовских хромосом – кариотип может быть 69.XXY, 69.XXX или 69.XYY. Плод погибает на 10 неделе внутриутробного развития.

При частичном пузырьном заносе определяется триплоидный (тройной) хромосомный набор. 23 хромосомы – это хромосомы, полученные с яйцеклеткой, остальные 46 хромосом – это два хромосомных набора, полученных со сперматозоидом. В большинстве случаев это возникает из-за оплодотворения яйцеклетки сразу двумя сперматозоидами [3]. В редких случаях это состояние возникает из-за оплодотворения яйцеклетки одним сперматозоидом с двойным хромосомным набором, т.е. диандрией [3]. Частота заносов довольно ощутима и в США составляет 1:500 родов, причем для женщин в возрасте старше 40 лет риск возрастает до 9% [3].

Гигантские ооциты составляют самостоятельный класс гамет, которые предрасположены давать триплоидных эмбрионов. Эти гаметы приблизительно вдвое больше по объему по сравнению с нормальными ооцитами и являются тетраплоидными после мейоза. Они могут возникать или в результате неспособности к разделению цитоплазмы (при нормальном делении ядер) или в результате цитоплазматического слияния двух оогоний [4]. Эти механизмы объясня-

ют двуядерное состояние незрелых гигантских клеток перед оплодотворением [5]. Гигантские эмбрионы наблюдались после оплодотворения гигантских ооцитов у человека [6].

До и после оплодотворения цитогенетический анализ гигантских ооцитов выявляет два возможных пути оплодотворения. После созревания ооцита два гаплоидных набора хромосом могут объединяться во время образования мейотического веретена, давая в результате одиночный диплоидный набор хромосом и диплоидное первое полярное тельце; оплодотворение одиночным спермием должно приводить к образованию гаплоидного мужского и диплоидного женского пронуклеусов. Морфологически эти собственно 2PN эмбрионы по хромосомному содержанию являются триплоидными. Второй сценарий возникает, если двуядерное состояние сохраняется в результате выталкивания двух гаплоидных первых полярных телец и двух материнских гаплоидных наборов в ооцит. Моноспермное оплодотворение в этом случае должно приводить к образованию трех гаплоидных пронуклеусов. Такие генетически аномальные эмбрионы могут быть идентифицированы при контроле оплодотворения и не используются для переноса в матку.

Женский репродуктивный тракт является первой защитой против оплодотворения двумя спермиями. Хотя 200-300 миллионов спермиев выбрасываются во влагалище во время спаривания, лишь несколько сотен в конечном итоге достигает яйцеводов. В случае обычного ЭКО, ооциты подвергаются действию значительно более высоких концентраций спермиев, что ведет к более высокой доле триплоидии по сравнению с состоянием *in vivo* [7]. Однако врожденные ооцит механизмы помогают минимизировать оплодотворение двумя спермиями.

Наиболее важной линией защиты против триплоидии является *zonapellucida* (ZP). Прозрачная зона состоит из трех гликопротеинов (ZP1, ZP2 и ZP3), которые взаимодействуют посредством нековалентных связей, чтобы создать решетчатую конструкцию внеклеточной мембраны [8]. ZP2 и ZP3, как полагают, являются структурной основой мембраны, тогда как ZP1 связывает два белка. Нулевые мыши, дефицитные по ZP2 или ZP3, стерильны из-за полного отсутствия у них блестящей зоны, тогда как дефицитные по ZP1 имеют рыхло организованную мембрану ZP и обнаруживают пониженную плодовитость [9]. Непосредственно после соединения спермия с ZP3 белковым рецептором, увеличивается ну-

триклеточный кальций посредством 1P3/DAQ пути, который ведет к высвобождению кортикальных гранул [10]. Точный механизм активации ооцита до конца неясен. Имеются некоторые доказательства на модельных мышах, которые подтверждают увеличение цитоплазматического кальция как следствие высвобождения фактора спермы после слияния спермия с яйцом [11-13]. Другие полагают, что этот феномен происходит благодаря пути связывания рецепторов сперматозоидов с рецепторами G-белка [14-16], в конечном итоге высвобождение кортикальных гранул ведет к реакции блестящей зоны или к уплотнению внеклеточного слоя. Эта реакция зоны предупреждает от проникновения дополнительных спермиев в прозрачную зону и тем самым от полиспермии.

Морфофункциональный зрелый ооцит в процессе оплодотворения имеет 2PN и 2PB. Пронуклеусы – гаплоидные ядра гамет в составе зиготы (гаплоидные ядра зиготы). В процессе оплодотворения в яйцеклетке формируется два клеточных ядра – мужское и женское. Женское ядро (женский пронуклеус) образуется из генетического материала яйцеклетки и несет «материнские» хромосомы. Мужское ядро (мужской пронуклеус) образуется из ядра проникшего в яйцеклетку сперматозоида и несет «отцовские» хромосомы.

Патологии формирования пронуклеусов многообразны. Наличие трёх пронуклеусов является признаком аномального оплодотворения: либо в яйцеклетку проникли два сперматозоида, либо третий пронуклеус сформирован из материала, не выделившегося второго полярного тельца; также возможны случаи формирования лишнего пронуклеуса путём аномального формирования ядерной мембраны (то есть фактически материал двух пронуклеусов распределяется по трем ядрам) [17].

Прямая визуализация зигот человека на пронуклеарной стадии не всегда служит предзнаменованием точной судьбы индивидуального эмбриона. Трипронуклеарные эмбрионы, возникающие у одной и той же пары, следовали различным онтогенетическими путями. Некоторые не способны вступать в сингамию и инициальное дробление, тогда как другие могут делиться на два бластомера и выталкиваемую массу.

У некоторых эмбрионов образуются три бластомера вследствие первого деления дробления и дают морфологически нормальных эмбрионов, которые неотличимы от хромосомно компетентных эмбрионов [18].

Это объясняет, почему является критическим отделение двупронуклеарных (2PN) зигот от 1PN и 3PN зигот спустя 18 ч после оплодотворения, чтобы избежать переноса хромосомно аномальных эмбрионов на 3-й день. 1 PN зиготы могут развиваться за пределы эмбриональной стадии и успешно имплантироваться. Определенные факторы могут предрасполагать к увеличению доли триплоидии, включая: продвинутый материнский возраст, сверхфизиологические уровни эстрадиола, post-maturity ооцитов, тяжелая олигоспермия и хромосомные аномалии родительских гамет.

Основываясь на вышеизложенном целью наших исследований было сравнительное изучение особенностей раннего эмбриогенеза диплоидных и триплоидных эмбрионов человека в *in vitro* условиях.

Материалы и методы исследования

Были изучены морфологические характеристики развития триплоидных эмбрионов в *in vitro* условиях. Для проведения этих исследований были проанализированы 75 циклов предимплантационной генетической диагностики у 75 супружеских пар, прошедших различные программы ВРТ в период 2013-2014 годы на базе Института репродукции человека и эмбриологии (г. Алматы, Казахстан).

Возраст женщин варьировал в пределах от 23 до 45 лет. Стимуляцию суперовуляции у женщин проводили по схеме гонадотропинами, контролировали развитие фолликулов с помощью ультразвукового исследования. При достижении доминантными фолликулами размера 18-20 мм вводили триггер овуляции – хорионический гонадотропин (ХГ) в дозе 5-10 тыс. МЕ. Преовуляторные ооциты получали посредством трансвагинальной пункции фолликулов через 35-36 часов после инъекции ХГ.

Культивирование гамет и эмбрионов включали в себя следующие этапы: подготовка культуральной среды, поиск и аспирация ооцитов из фолликулярной жидкости, обработка спермы, оплодотворение, оценка оплодотворения на первый день, оценка дробления на 2-3 день и на 5-6 день оценка бластуляции.

Для культивирования гамет и эмбрионов использовали инкубаторы фирмы ThermoForma (Германия), расходные материалы фирмы Nunc (Дания), среды SK-01, SK-02, SK-03, Flushing компаний Kitazato (Япония) и Origio (Дания).

В день пункции ооцит-кумулюсные комплексы помещали в культуральную среду. Инсементировали через 4 часа после пункции. На следующий день производили чистку ооцитов от кумулюсных комплексов для оценки оплодотворения и переносили в среду для дробления. Затем оценивали качество эмбрионов на третий день. Если культивирование эмбрионов продолжали до 5-х суток, то оценивали качество blastocyst по стадии экспандирования и морфологии трофэктодермы и внутренней клеточной массы. Все манипуляции производили в стерильных условиях при температуре 37°C.

Перед проведением интрацитоплазматической инъекции единичного сперматозоида (ИКСИ) очищали ооциты от клеток кумулюса. Эта процедура дает возможность оценить степень зрелости ооцитов и контролировать локализацию первого полярного тельца в ходе микроманипуляции. Удаление клеток кумулюса осуществляли с помощью раствора гиалуронидазы.

Преинкубационный период ооцит – кумулюсных комплексов (ОКК) в культуральной среде продолжался до 3 часов. Затем ОКК помещали в раствор гиалуронидазы для денудирования. После ферментативной и механической обработки ооцитов оценивали степень их зрелости. ИКСИ проводили на ооцитах, достигших стадии МII.

ИКСИ проводили в крышках чашек Петри (35x10 мм) («Nunc», Дания). В центр помещали в ряд одну под другой до 4-х капель среды (Fertilization «Kitazato», Япония), также формировали плоскую каплю PVP («Kitazato», Япония), покрывали парафиновым маслом («Kitazato», Япония).

Для выполнения ИКСИ использовались микрокапилляры (микроинжекторы и микропипетки) фирмы «Microtech» (Чехия) и микроманипуляторы фирмы «Narishige» (Япония). Стандартная процедура ИКСИ проводится под микроскопом фирмы «Olympus» (Япония) под увеличением в 200 раз.

Результаты исследований и их обсуждение

Эффективность программ ВРТ достигает 40-50% на перенос эмбрионов в одном менструальном цикле. Для достижения таких показателей необходим, как хороший генетический материал, качественные ооциты, сперматозоиды,

следовательно хорошие эмбрионы, так и их рациональное использование. Всем известно, что с возрастом у человека снижается его фертильность [19] и увеличивается частота патологий среди предимплантационных эмбрионов [20]. Поэтому, на первом этапе наших исследований мы разделили женщин на четыре группы по возрасту для выявления частоты геномных нарушений (таблица 1). В таблице 1 показано распределение женщин по возрастным диапазонам и соответствующие им показатели по количеству созревших фолликулов и полученных в результате пункций ооцитов.

Таблица 1 – Статистические данные количества фолликулов и полученных ооцитов в разных возрастных группах женщин в рамках программ ВРТ.

Возрастной диапазон	Количество женщин	Среднее число фолликулов	Среднее число ооцитов
До 30 лет	18	14,2 ± 2,2*	13,1 ± 1,8*
31-35 лет	21	9,4 ± 1,7*	8,1 ± 1,5*
36-39 лет	23	7,1 ± 3,2*	5,8 ± 1,9*
От 40 лет и старше	13	3,7 ± 1,4*	2,1 ± 1,1*
*-P> 0,1			

Результаты, приведенные в таблицы 1, показывают, что с возрастом снижается овариальный резерв и увеличивается количество пустых фолликулов. При дальнейшей сравнительной оценке оплодотворения у женщин разного возрастного диапазона была показана корреляция частоты нормального и аномального оплодотворения с возрастом (рисунок 1). Наибольшая частота нормального оплодотворения (с формированием двух пронуклеусов и двух полярных тел – 2PN и 2PB) наблюдалась у женщин в возрасте до 30 лет и составляла 83,6%, с возрастом фиксировалось постепенное снижение данного показателя с минимальным значением в старшей возрастной группе – 46%. Частота неоплодотворенных ооцитов незначительно увеличивалась с возрастом. Наибольший интерес представляет сравнение частоты образования триплоидии, которые являлись результатом дигинии, диандрии и диспермии. Выявлена выраженная зависимость частоты образования триплоидов в зависимости от возраста женщин.

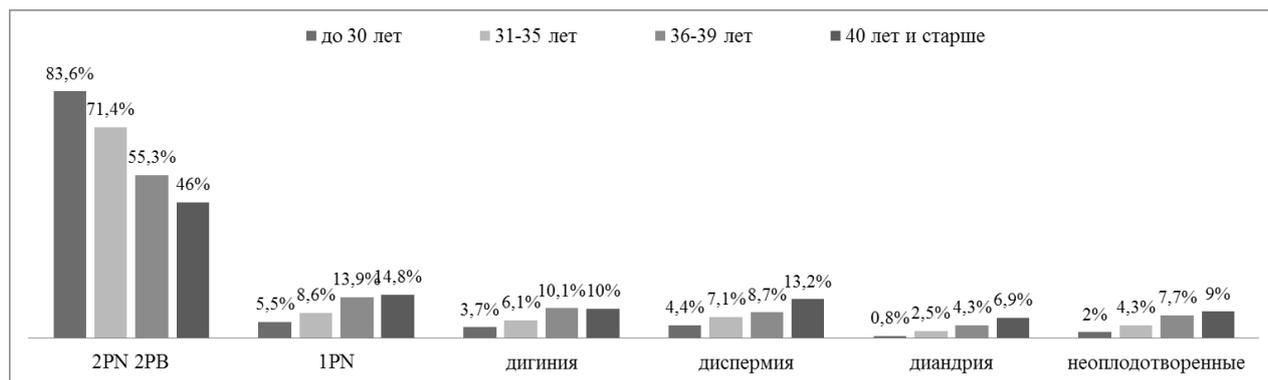


Рисунок 1 – Сравнительная оценка оплодотворения ооцитов.

Таблица 2 – Исследование морфологических характеристик триплоидных эмбрионов человека

	2 день				3 день				5 день			
	Нет дробления	%	2-4 кл.	%	Остановились в развитии	%	6-8 кл.	%	Остановились в развитии	%	бластоцисты	%
Дигиния	13	7,1%	58	31,7%	7	4,8%	51	35,2%	21	34,5%	5	8,2%
Диандрия	8	4,4%	24	13,1%	3	2,1%	21	14,4%	6	9,8%	0	0%
Диспермия	17	9,3%	63	34,4%	10	6,9%	53	36,6%	22	47,5%	7	11,5%



а

б

Рисунок 2 – Развитие эмбрионов в условиях *in vitro* культивирования через 48 ч. после оплодотворения. (А) двухклеточные эмбрионы, (Б) четырехклеточные эмбрионы (Справа триплоидный, слева диплоидный). Увеличение x 400)

На втором этапе исследований был проведен сравнительный анализ морфологических характеристик диплоидных и триплоидных эмбрионов (рисунок 2-5) в условиях *in vitro* культивирования через 48-120 часов после оплодотворения. Через 48 ч. после оплодотворения диплоидные обычно имеют четное количество бластомеров в отличие от триплоидных эмбрионов, которые

могут содержать, как четное так и не четное количество бластомеров. Наблюдение за дроблением через 72 ч. (рисунок 3) показывает, что разница в асинхронном дроблении между диплоидными и триплоидными эмбрионами человека исчезает, т.е. становится невозможным отличить диплоидные эмбрионы от триплоидных эмбрионов по каким-либо морфологическим маркерам.



Рисунок 3 – Развитие эмбрионов в условиях *in vitro* культивирования через 72 ч. после оплодотворения. (А) шестиклеточные эмбрионы, (Б) восьмиклеточные эмбрионы (справа триплоидный, слева диплоидный). Увеличение x 400)

Наблюдение за дроблением через 96 и 120 ч. после оплодотворения (рисунок 4-5) также подтверждает, данные по развитию эмбрионов полученные

на 3 сутки культивирования, за исключением частоты бластуляции на пятые сутки, которая значительно выше в группе диплоидных эмбрионов.

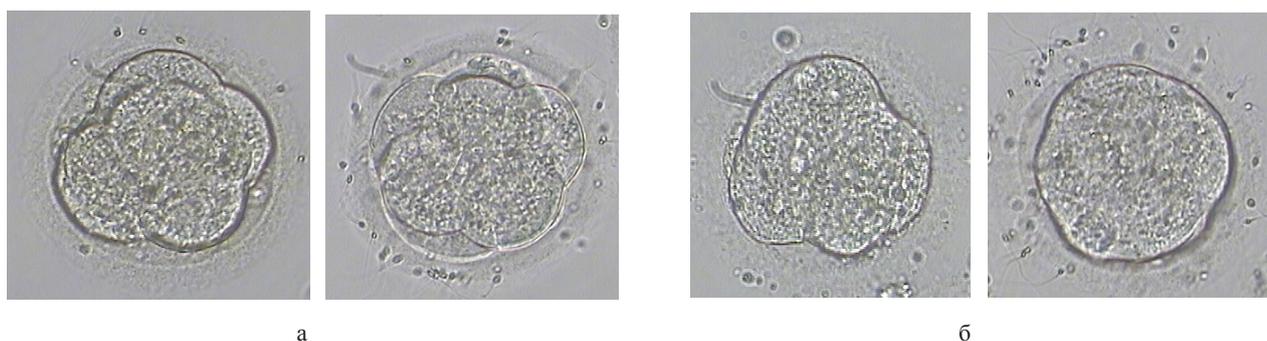


Рисунок 4 – Развитие эмбрионов в условиях *in vitro* культивирования через 96 ч. после оплодотворения. (А) начало компактизации, (Б) морулы (справа триплоидный, слева диплоидный). Увеличение 400)

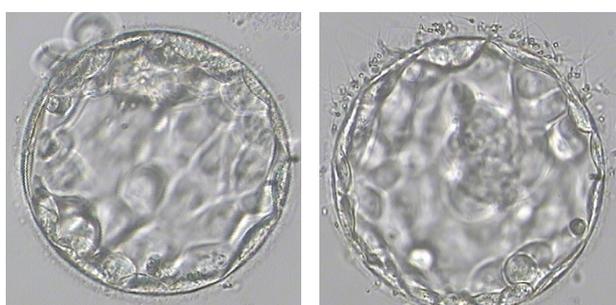


Рисунок 5 – Развитие эмбрионов в условиях *in vitro* культивирования через 120 ч. после оплодотворения на стадии бластоцисты (справа триплоидный, слева диплоидный). Увеличение x 400)

Все данные, полученные в ходе проведения анализа морфологических характеристик триплоидных эмбрионов приведены в таблице 2. Как показано в таблице 2, через 48 ч. после оплодотворения количество не поделившихся триплоидных эмбрионов составила 9,3% в группе диспермии, 7,1% в группе дигинии и 4,4% в группе диандрии. Такие низкие проценты указывают на то, что, несмотря на неправильное оплодотворение ооцитов способность этих зигот к дроблению сохраняется на довольно высоком уровне. Через 72 ч. после оплодотворения количество остановившихся в развитии триплоидных эмбрионов составила 6,9% в группе диспермии,

и по 4,8% в группах дигинии и диандрии. И наконец, на 5 сутки после оплодотворения частота бластуляции триплоидных эмбрионов составила 11,5% в группе диспермии и 8,2% в группе дигинии. В группе диандрии бластоцист на пятые сутки не наблюдалось.

В рамках программы ЭКО триплоидные эмбрионы человека являются абортивным материалом и утилизируются. Однако потенциал и генетические механизмы, реализуемые в триплоидных эмбрионах до сих пор неизвестны. Проведенные исследования и полученные на их основе данные позволяют сделать следующие выводы:

- Сравнительная оценка оплодотворения ооцитов у женщин разного возрастного диапазона показала положительную корреляцию частоты аномального оплодотворения и возраста женщин. В частности, выявлена выраженная зависимость частоты образования триплоидов в зависимости от возраста пациенток.

- Онтогенетический путь развития триплоидных эмбрионов человека не отличается от раннего эмбрионального развития диплоидных эмбрионов на стадии дробления.

- Частота бластуляции на пятые сутки культивирования эмбрионов значительно выше в группе диплоидных эмбрионов человека.

Литература

- 1 Hassold T.J. Chromosome abnormalities in human reproductive wastage // *Trends in Genetics*. – 1996. – No. 2. – 1996. – P. 105–110.
- 2 Redline R.W., Hassold T., Zaragoza M.V. Prevalance of the partial molar phenotype in triploidy of maternal and paternal origin // *Hum. Pathol.* – 1998. – No. 29. – P. 505–511.
- 3 Lindor N.M., Ney J.A., Gaffey T.A., Jenkins R.B., Thibodeau S.N., Dewald G.W. A genetic review of complete and partial hydatidiform moles and nonmolar triploidy // *Mayo. Clin. Proc.* – 1992. – No. 67. – P. 791–799.
- 4 Austin C.R. Anomalies of fertilization leading to triploidy // *J. Cell Comp. Physiol.*, 56 (Suppl. 1). – 1990. – P. 1–15.
- 5 Rosenbusch B., Schneider M. Predivision of chromosomes in human oocytes: a reappraisal of cytogenetic nomenclature // *Cytogenet. Cell Genet.* – 2000. – No. 89. – P. 189–191.
- 6 Munné S., Cohen J. Chromosome abnormalities in human embryos // *Hum. Reprod. Update*. – 1998. – Vol. 4, No. 6. – P. 842–855.
- 7 Ducibella T. The cortical reaction and development of activation competence in mammalian oocytes // *Hum. Reprod. Update*. – 1996. – Vol. 2, No. 1. – P. 29–42.
- 8 Wassarman P.M., Jovine L., Litscher E.S. A profile of fertilization in mammals // *Nat. Cell Biol.* – 2001. – No. 3. – P. 59–64.
- 9 Wassarman P.M., Qi H., Litscher E.S. Mutant female mice carrying a single mZP3 allele produce eggs with a thin zona pellucida, but reproduce normally // *Proc. R. Soc. Biol. Sci.* – 1997. – No. 264. – P. 323–328.
- 10 Kline J.T., Kline D. Regulation of intracellular calcium in the mouse egg: evidence for inositol triphosphate-induced calcium release, but not calcium-induced calcium release // *Biol. Reprod.* – 1994. – No. 50. – P. 193–203.
- 11 Dale B., DeFelice L., Ehrenstein G. Injection of a soluble sperm extract into sea urchin eggs triggers the cortical reaction // *Experimental*. – 1985. – Vol. 41, No. 8. – P. 1068–1070.
- 12 Stice S.L., Robl J.M. Activation of mammalian oocytes by a factor obtained by rabbit sperm // *Mol. Reprod. Dev.* – 1990. – Vol. 25, No. 3. – P. 272–280.
- 13 Swann K. A cytosolic sperm factor stimulates repetitive calcium increases and mimics fertilization in hamster eggs // *Development*. – 1990. – No. 110. – P. 1295–1302.
- 14 Kline D., Simoncini L., Mandel G. et al. Fertilization events induced by neurotransmitters after injection of mRNA in *Xenopus* eggs // *Science*. – 1998. – Vol. 241, No 4864. – P. 464–467.
- 15 Miyazaki S., Ito M. Calcium signals for egg activation in mammals // *J Pharmacol Sci.* – 2006. – No. 100. – P. 545–552.
- 16 Williams C.J., Schultz R.M., Kopf G.S. Role of G-proteins in mouse egg activation: stimulatory effects of acetylcholine on the ZP2 to ZP2f conversion and pronuclear formation in eggs expressing a functional m1 muscarinic receptor // *Dev. Biol.* – 1992. – Vol. 151, No. 1. – P. 288–296.
- 17 Grossmann M., Calafell J.M., Brandy N., Vanrell J.A., Rubio C., Pellicer A., Egozcue J., Vidal F., Santaló J. Origin of tripronucleate zygotes after intracytoplasmic sperm injection // *Hum. Reprod.* – 1997. – No. 12. – P. 2762–2765.
- 18 Veeck L.L. An atlas of Human Gametes and Conceptuses // Parthenon Publishing Group. – 1999. – P. 150–157.
- 19 American Society for Reproductive Medicine. Definition of “infertility” // *Fertil Steril.* – 2006. – No. 86. – P. 228.
- 20 De Vos A., Van Steirteghem A. Aspects of biopsy procedures prior to preimplantation genetic diagnosis // *Prenat. Diagn.* – 2001. – No. 21. – P. 767–780.