

© Коллектив авторов, 2021

А.Н. ЕКИМОВ, Н.В. АЛЕКСАНДРОВА, Е.С. ШУБИНА, О.В. РИТЧЕР, А.Ю. ГОЛЬЦОВ, Т.А. НАЗАРЕНКО

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ С ПОМОЩЬЮ ФРАГМЕНТНОГО STR-АНАЛИЗА ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛНОГЕНОМНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

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

Цель. Разработать метод определения материнского или отцовского происхождения хромосомных анеуплоидий эмбриона с помощью STR-анализа у пациентов программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Материалы и методы. Разработка велась с использованием материала биопсии трофэктодермы эмбрионов 58 пар пациентов (116 человек). Предимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии (ПГТ-А) и моногенные заболевания (ПГТ-М) осуществляли с помощью высокопроизводительного секвенирования. Определение происхождения анеуплоидий проводили фрагментным анализом STR-маркеров.

Результаты. После ПГТ-А анеуплоидии были выявлены у 67 эмбрионов (41%); эуплоидными были 65 (40%); мозаичные формы были обнаружены у 28 (17%) эмбрионов. Были разработаны праймеры для анализа хромосом 1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 22 и X. Проведенный анализ (16-я хромосома (n=7 эмбрионов), 19-я хромосома (n=5 эмбрионов) и 22-я хромосома (n=8 эмбрионов)) показал, что с помощью данного подхода можно идентифицировать анеуплоидии как материнского, так и отцовского происхождения.

Заключение. Показана принципиальная технологическая возможность проведения фрагментного STR-анализа с целью генотипирования эмбрионов с использованием различных продуктов полногеномной амплификации. Это позволяет проводить ПГТ-А и ПГТ-М совместно с генотипированием эмбрионов без необходимости повторных биопсий. Изучение влияния родительского вклада в развитие анеуплоидий эмбрионов в будущем позволит выбрать оптимальную тактику ведения пациентов с неоднократными неудачными попытками ВРТ и невынашиванием беременности в анамнезе.

Ключевые слова: вспомогательные репродуктивные технологии, эмбрион, ПГТ-А, ПГТ-М, хромосомные аномалии, анеуплоидии, фрагментный анализ, генотипирование.

Вклад авторов. Екимов А.Н.: идея и дизайн исследования, обработка и анализ результатов, написание статьи; Александрова Н.В.: сбор и анализ литературных данных, сбор библиотеки биологических образцов, проведение программ ВРТ у супружеских пар, написание статьи; Шубина Е.С.: разработка и синтез праймеров для фрагментного анализа; Ритчер О.В.: постановка ПГТ-А и получение ампликонов для фрагментного анализа; Гольцов А.Ю.: высокопроизводительное секвенирование и фрагментный анализ; Назаренко Т.А.: редактирование и утверждение публикации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Финансирование. Данная работа поддержана за счет средств, предоставленных РФФИ, в рамках научного проекта № 17-29-06041.

Для цитирования: Екимов А.Н., Александрова Н.В., Шубина Е.С., Ритчер О.В., Гольцов А.Ю., Назаренко Т.А. Генотипирование эмбрионов с помощью фрагментного STR-анализа после проведения полногеномной амплификации. Акушерство и гинекология. 2021; 1: 126-132
<https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.1.126-132>

©A group of authors, 2021

A.N. EKIMOV, N.V. ALEXANDROVA, E.S. SHUBINA,
O.V. RITCHER, A. YU. GOLTISOV, T.A. NAZARENKO

GENOTYPING OF EMBRYOS USING FRAGMENTAL STR ANALYSIS AFTER WHOLE GENOME AMPLIFICATION

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

Aim. To develop a method for determining the maternal or paternal origin of chromosomal aneuploidies in embryos by performing STR analysis for patients who undergo assisted reproductive technologies (ART) programs.

Materials and methods. The development of the method was carried out using biopsy material of the trophoctoderm in embryos of 58 couples of patients (116 persons). Preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) was performed using high-throughput sequencing. Determination of the origin of aneuploidy was performed by fragment analysis of STR markers.

Results. After PGT-A, aneuploidy was detected in 67 embryos (41%); euploid embryos were 65 (40%); mosaic forms were found in 28 (17%) embryos. Primers have been developed for the analysis of chromosomes 1, 3, 4. Development of primers for analysis of 1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 22 and X chromosomes was performed. The analysis of chromosome 16 ($n = 7$ embryos), chromosome 19 ($n = 5$ embryos) and chromosome 22 ($n = 8$ embryos) showed that this approach can be used to identify both maternal and paternal origin of aneuploidy.

Conclusion. A technological possibility of carrying out STR fragment analysis with purpose of genotyping of embryos using various products of whole genome amplification was shown. It makes possible to carry out PGT-A and PGT-M together with embryo genotyping without the need for repeated biopsies. The study parental contribution to the development of embryonic aneuploidy in future will allow to choose the most optimal tactics for managing patients with repeated unsuccessful attempts of ART and past miscarriages.

Keywords: assisted reproductive technologies, embryo, PGT-A, PGT-M, chromosomal abnormalities, aneuploidy, fragment analysis, genotyping.

Author's contribution. Ekimov A.N., idea and design of the study, data processing and analysis, writing the text of the article; Alexandrova N.V.: collection and analysis of published data, collection of biological samples, implementation of ART programs in married couples, writing the text of the article; Shubina E.S.: development and synthesis of primers for fragment analysis; Ritchev O.V.: carrying out PGT-A and obtaining amplicons for fragment analysis; Goltsov A.Yu.: high-throughput sequencing and fragment analysis; Nazarenko T.A.: editing and approval of the article for publication.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interests.

Financing. This study was supported by the Russian Fund of Fundamental Researches in the scope of scientific project # 17-29-06041.

For citation: Ekimov A.N., Alexandrova N.V., Alwexandrova N.V., Shubina E.S., Ritchev O.V., Goltsov A.Yu., Nazarenko T.A. Genotyping of embryos using fragmental STR analysis after whole genome amplification. *Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology*. 2021; 1: 126-132 (in Russian) <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.1.126-132>

Ключевым этапом каждого цикла экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) является отбор эмбриона с наивысшим потенциалом имплантации [1]. Тем не менее перенос в полость матки эмбриона с хорошей морфологией не всегда приводит к его имплантации [2], поскольку одним из факторов имплантационных и ранних репродуктивных потерь являются хромосомные анеуплоидии (ХА) эмбрионов [3]. Кроме того, описаны анеуплоидии, приводящие к остановке развития эмбриона и нарушению клеточного деления [3]. В настоящее время морфологические методы оценки качества эмбриона не позволяют с достаточно высокой точностью выявить анеуплоидии [4]. Установлено, что с увеличением возраста матери растет вероятность обнаружения хромосомных аномалий эмбрионов [5], однако даже при оплодотворении донорских яйцеклеток, полученных у молодых здоровых женщин, в 18–61% случаев обнаруживаются ХА эмбрионов [6].

Большинство анеуплоидий имеют материнское происхождение, т.е. возникают вследствие мейотических ошибок [7]. Ранее было показано, что в бластомерах хромосомные трисомии материнского происхождения выявлялись почти в 10 раз чаще, чем трисомии отцовского происхождения. Предимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии (ПГТ-А) с помощью анализа полярных телец показало, что ошибки в мейозе II (МII) встречаются чаще, чем в мейозе I (MI). Ошибки материнского мейоза являются основными причинами формирования ХА эмбрионов человека; из них в 45% случаев ХА формируется за счет МII, а 34% ХА эмбрионов – за счет MI [8].

В течение последних лет значительно повысилась доля пациенток старшего репродуктивного возраста, обращающихся по поводу лечения бесплодия при помощи вспомогательных репродуктивных техно-

логий (ВРТ) [9], при этом обнаружение ХА у них может достигать 90% случаев. В связи с этим прилагается много усилий для внедрения новых подходов с целью диагностики ХА. К технологиям, позволяющим оценивать все 24 хромосомы, относят сравнительную геномную гибридизацию [10], количественную полимеразную цепную реакцию (ПЦР) [11, 12] и высокопроизводительное секвенирование [13–15]. Недостатком вышеуказанных методов является невозможность различить материнское или отцовское происхождение анеуплоидий. Происхождение анеуплоидии можно определить с помощью детекции и сравнительного анализа однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в образцах ДНК эмбрионов и их родителей [7]. Генотипирование обоих родителей и эмбриона в то же время позволяет нам различать родительское происхождение каждой хромосомы, а также идентифицировать позиции, в которых произошел кроссинговер. Более того, с помощью SNP-гаплотипирования возможно измерение числа хромосом. Все это дает возможность получать исчерпывающую информацию о механизмах появления и происхождении ХА у эмбрионов. Однако данный метод является очень дорогим и требует специального оборудования.

Цель исследования: разработать метод определения материнского или отцовского происхождения ХА эмбриона с помощью STR-анализа у пациентов программ ВРТ.

Материалы и методы

Для разработки данного метода использовали материал биопсии трофобласта эмбрионов 58 пар пациентов (116 человек), обратившихся для проведения программы ВРТ с ПГТ-А по следующим показаниям: возраст матери старше 35 лет, неоднократные неудачные попытки ЭКО у

анамнезе (2 и более), привычное невынашивание, выраженные нарушения сперматогенеза, желание пациентки. Пациентки прошли амбулаторное обследование перед программой ЭКО, которое включало обязательные методы исследования, специальные методы исследования, а также исследования по медицинским показаниям. У всех пациентов было получено информированное согласие на проведение данного исследования. От каждой пары были получены образцы крови, собранные в пробирки с EDTA для дальнейшего выделения ДНК.

Для стимуляции функции яичников использовали протокол с антагонистом гонадотропин-рилизинг-гормона. Стимуляцию проводили препаратами рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), комбинированного препарата рекомбинантного ФСГ и лютеинизирующего гормона (ЛГ) или человеческого менопаузального гонадотропина со 2–3-го дня менструального цикла. Доза препарата зависела от возраста пациентки и овариального резерва (уровня антимюллерова гормона (АМГ) и числа антральных фолликулов по данным ультразвукового исследования). Полученные в ходе трансвагинальной пункции зрелые ооциты были оплодотворены методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ). После оплодотворения ооциты переносили в культуральную среду Cook (Австралия).

Морфологическая оценка эмбрионов проводилась через 120–122 ч (на 5-е сутки) культивирования. Учитывали морфологические характеристики эмбрионов по классификации Гарднера (степень зрелости бластоцист, качество внутриклеточной массы и качество трофобластической оболочки (ТФЭ)). Биопсию ТФЭ проводили на 5-й день культивирования эмбрионов *in vitro* (через 120 ч после трансвагинальной пункции) с помощью микроманипулятора Narishiga (Япония). Для рассечения *zona pellucida* использовали лазерную пушку Fertilase (Германия). Для аспирации клеток ТФЭ использовали микропипетки Cook (Австралия). С использованием микропипеток TRC для биопсии эмбрио-

нов (The Pepette Company, Австралия) и активного лазера Octax (MTG, Германия) забирали в среднем 5–10 клеток ТФЭ каждого эмбриона. Клетки ТФЭ промывали в стерильной среде, содержащей буфер HEPES (FertiPro), и помещали их в каплях объемом 3 мкл в 0,2 мл пробирки Eppendorf для ПЦР.

Полногеномную амплификацию проводили с помощью WGA-PCR (Rubicon, США) и MDA (Qiagen, США). ПГТ-А с помощью высокопроизводительного секвенирования проводили на наборах ReproSeq (Thermo Fisher Scientific, США). В дальнейшем полногеномный амплификат использовали для проведения фрагментного анализа. Для этого осуществляли дополнительный этап амплификации с использованием оригинальных, разработанных в рамках данного исследования, меченных флюорофором праймеров для STR-анализа. Фрагментный анализ ДНК родителей проводили без предварительного этапа полногеномной амплификации. Полученные меченные флюорофором ампликоны анализировали с использованием прибора для проведения капиллярного электрофореза Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems). Анализ и сравнение полученных STR-профилей проводили при помощи программного обеспечения GeneMapper ID v3.2.1 (Applied Biosystems).

Результаты

Всего для разработки данного методического подхода использовали ТФЭ 167 эмбрионов. Среднее количество проанализированных эмбрионов на одну пациентку составило 2,8.

После проведения ПГТ-А анеуплоидии были выявлены у 67 эмбрионов (41%), эуплоидными были 65 (40%), мозаичные формы были обнаружены у 28 (17%) эмбрионов. 3 эмбриона были полиплоидными. Не прошла полногеномная амплификация у 4 эмбрионов (2%). Наиболее часто анеуплоидии в эмбрионах были связаны с 22-й и 16-й хромосомами (рис. 1).

В рамках данного исследования были подобраны и синтезированы праймеры для анализа хромосом



1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 22 и X (таблица). Выбор данных генов и регионов был обусловлен тем, что полученные STR-маркеры были информативны для проведения ПГТ-М соответствующих заболеваний. Например, праймеры для исследования 5-й хромосомы человека разработаны так, чтобы можно было использовать их для изучения наследования заболеваний, связанных с нарушениями в гене *SMN1* (спинальная мышечная атрофия). Праймеры для исследования 16-й хромосомы расположены в области гена *PKD1* и предназначены для изучения наследования синдрома поликистозных яичников (СПКЯ).

С целью определения возможности проведения данного исследования на различном биологиче-

ском материале мы обрабатывали фрагментный анализ на образцах, полученных разными способами: 1) полногеномная амплификация с помощью WGA-PCR, полученная с помощью наборов Rubicon (USA); 2) полногеномная амплификация, полученная с помощью WGA-PCR с бар-кодами для высокопроизводительного секвенирования (ThermoFisher, USA); 3) полногеномная амплификация, полученная с помощью MDA (Qiagen, USA); 4) нативная ДНК, выделенная из крови (отец и мать).

Было показано, что для успешного проведения STR-анализа и определения родительского вклада в развитие анеуплоидий эмбрионов можно использовать как продукт, полученный с помощью WGA-

Рис. 2.1. Клинический пример отцовского вклада в трисомию 19

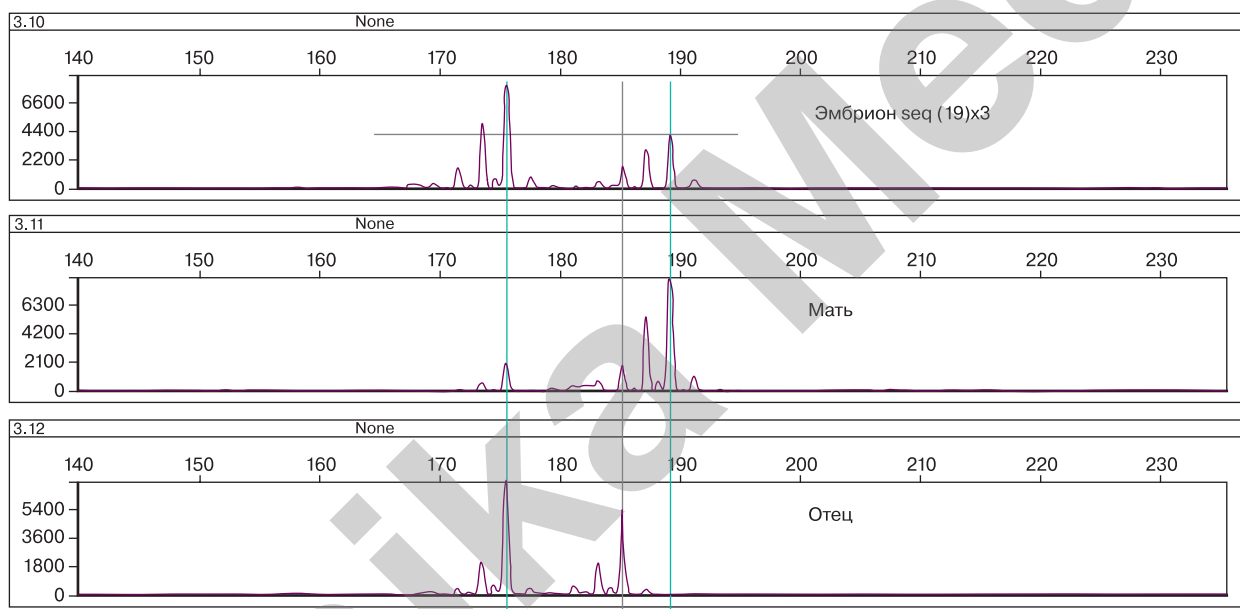
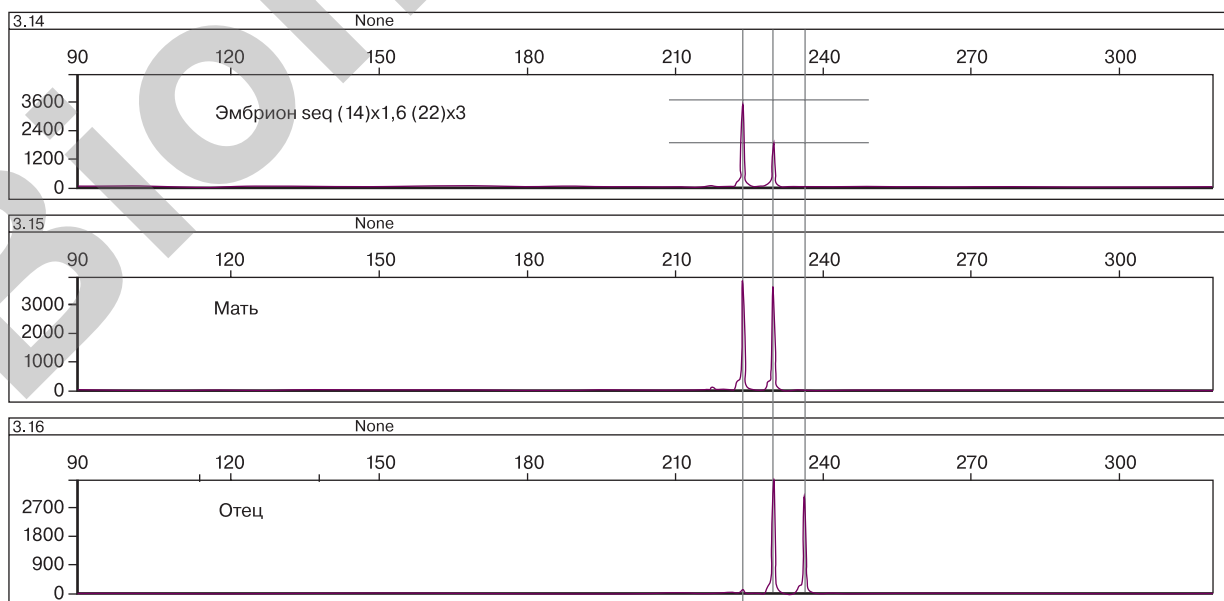


Рис. 2.2. Клинический пример материнского вклада в трисомию 22



PCR (как с бар-кодами для высокопроизводительного секвенирования, так и без них), так и продукты, полученные с помощью MDA. Вместе с тем надежные результаты можно получить только в том случае, если STR-маркеры родителей не совпадают, так как на величину пика и площадь под кривой может влиять неравновесная полногеномная амплификация разных участков разных хромосом. Также при использовании полногеномной амплификации возможно выпадение аллеля, что затрудняет или вовсе делает невозможной правильную интерпретацию результатов, однако в нашей работе данный феномен не был выявлен.

Фрагментарный анализ эмбрионов по отдельным хромосомам (16-я хромосома ($n=7$ эмбрионов), 19-я хромосома ($n=5$ эмбрионов) и 22-я хромосома ($n=8$ эмбрионов)) показал, что с помощью данного подхода можно идентифицировать анеуплоидии как материнского, так и отцовского происхождения (рис. 2.1, 2.2). Так на рисунке 2.1 видно, что эмбрион получил две 19-х хромосомы от отца и одну от матери. Из рисунка 2.2 следует, что эмбрион получил одну 22-ю хромосому от отца и две от матери.

Несмотря на то что были разработаны методики выявления родительского происхождения практически для всех анеуплоидий, в ряде случаев интерпретация результатов была неоднозначной, что требует проведения дополнительных исследований в данной области.

Обсуждение

В ходе анализа 167 образцов биопсии ТФЭ от 58 пациенток, обратившихся для проведения программы ЭКО с ПГТ-А, в 41,0% случаев были диагностированы анеуплоидные эмбрионы, что согласуется с полученными ранее данными [16, 17]. Безусловно, возраст матери играет важную роль в возникновении анеуплоидии; но анеуплоидии в эмбрионах определяются также и в программах ЭКО с донорскими ооцитами, где, как известно, возраст донора не превышает 35 лет [6].

В нашем исследовании в 17% случаев были выявлены эмбрионы с мозаичным генотипом, при переносе в полость матки которых частота наступления беременности более низкая; при этом повышается риск невынашивания беременности [18]. Решение о переносе эмбрионов с мозаичным генотипом в

полость матки является спорным вопросом без четких рекомендаций на сегодняшний день, поэтому в настоящем исследовании мы углубленно такие эмбрионы не анализировали.

Преимуществами применения фрагментного STR-анализа являются его относительная простота и дешевизна. Для его проведения требуется комплект оборудования, который, как правило, имеется в распоряжении большинства генетических лабораторий. Это амплификатор для проведения ПЦР и прибор для капиллярного электрофореза. Кроме того, отсутствует необходимость в дорогостоящих приборах для сравнительной геномной гибридизации или высокопроизводительного секвенирования.

Проведенный анализ эмбрионов с помощью фрагментного анализа по 16 ($n=7$ эмбрионов), 19 ($n=5$ эмбрионов) и 22 ($n=8$ эмбрионов) хромосомам показал принципиальную возможность определения родительской принадлежности хромосом у анеуплоидных эмбрионов.

Если в результате ПГТ-А с определением родительского происхождения анеуплоидий отсутствуют эмбрионы, рекомендованные к переносу, целесообразно повторное проведение программы. При повторном отсутствии эмбрионов для переноса по результатам ПГТ-А с определением родительского происхождения анеуплоидий рекомендуется проведение программы ЭКО с донорскими клетками. Выбор донорского материала (ооциты или сперма) рекомендуется проводить на основании результатов ПГТ: если анеуплоидии имеют материнское происхождение – программа ЭКО с донорскими ооцитами, если отцовское – программа ЭКО с использованием донорской спермы.

При невозможности получить эмбрионы для последующей программы с ПГТ-А с определением родительского происхождения анеуплоидий рекомендуется ориентировать пациентов на программу с использованием донорских клеток.

Заключение

Показана принципиальная технологическая возможность проведения фрагментного STR-анализа с целью генотипирования эмбрионов с использованием различных продуктов полногеномной ампли-

Таблица. Праймеры для хромосомного анализа

Хромосома	Гены	Хромосома	Гены
1	<i>GBA, RHD</i>	12	<i>PAH</i>
3	<i>GLB1</i>	13	<i>ATP7B, GJB2</i>
4	<i>PKD2</i>	14	<i>GALC</i>
5	<i>SMN1</i>	15	<i>OCA2, HEXA</i>
6	<i>CYP21, HFE, PKHD1</i>	16	<i>HBA1, HBA2, PKD1, MEFV</i>
7	<i>CFTR, SLC26A4</i>	19	<i>GCDH</i>
9	<i>GALT, FXN</i>	22	<i>ARSA</i>
11	<i>HBB, ATM, TYR</i>	X	<i>DMD, F8, F9, FMR, WAS</i>

фикации. Данный подход позволяет проводить ПГТ-А и ПГТ-М совместно с генотипированием эмбрионов без необходимости повторных биопсий, которые могут негативно влиять на их жизнеспособность. Изучение влияния родительского вклада в развитие анеуплоидий эмбрионов в будущем, возможно, позволит выбрать оптимальную тактику ведения пациентов с неоднократными неудачными попытками ВРТ и невынашиванием беременности в анамнезе.

Литература/References

1. Faramarzi A., Khalili M.A., Ashourzadeh S. Oocyte morphology and embryo morphokinetics in an intra-cytoplasmic sperm injection programme. Is there a relationship? *Zygote*. 2017; 25(2):190-6. <https://dx.doi.org/10.1017/S0967199417000041>.
2. El-Danasouri I., Sterzik K., Rinaldi L., Pacchiarotti A., DeSanto M., Selman H. Effect of transferring a morphologically impaired embryo with a good quality embryo on the pregnancy and implantation rates. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016; 20(3): 394-8.
3. Dahdouh E.M., Balayla J., Garcia-Velasco J.A. Comprehensive chromosome screening improves embryo selection: a meta-analysis. *Fertil. Steril.* 2015; 104(6): 1503-12. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.08.038>.
4. Minasi M.G., Colasante A., Riccio T., Ruberti A., Casciani V., Scarselli F. et al. Correlation between aneuploidy, standard morphology evaluation and morphokinetic development in 1730 biopsied blastocysts: a consecutive case series study. *Hum. Reprod.* 2016; 31(10): 2245-54. <https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew18>.
5. Бейк Е.П., Сыркашева А.Г., Долгушина Н.В. Эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток позднего репродуктивного возраста. *Гинекология*. 2018; 20(1): 109-12. [Beik E.P., Syrkasheva A.G., Dolgushina N.V. Effectiveness of programs of auxiliary reproductive technologies in patients of late reproductive age. *Gynecology*. 2018; 20(1): 109-12. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.26442/2079-5696_20.1.109-112.
6. Munné S., Alikani M., Ribustello L., Colls P., Martínez-Ortiz P.A., McCulloh D.N.; Referring Physician Group. Euploidy rates in donor egg cycles significantly differ between fertility centers. *Hum. Reprod.* 2017; 32(4): 743-9. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex031>.
7. Rabinowitz M., Ryan A., Gemelos G., Hill M., Baner J., Cinnioglu C. et al. Origins and rates of aneuploidy in human blastomeres. *Fertil. Steril.* 2012; 97(2): 395-401. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.11.034>.
8. Handyside A.H., Montag M. Multiple meiotic errors caused by predivision of chromatids in women of advanced maternal age undergoing *in vitro* fertilisation. *Eur. J. Hum. Genet.* 2012; 20(7): 742-7. <https://dx.doi.org/10.1038/ejhg.2011.272>.
9. Назаренко Т.А. Эндокринные факторы женского и мужского бесплодия. Принципы гормонального лечения. М.: МИА; 2017. [Nazarenko T.A. Endocrine factors of female and male infertility. Principles of hormone treatment. Moscow, 2017. (in Russian)].
10. Zhou Z., Ma Y.L., Li Q., Zhang Y., Huang Y.H., Tu Z.H. et al. Clinical application of oligo array-CGH for detecting balanced translocations in preimplantation genetic diagnosis. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2017; 10(7): 7821-35. eCollection 2017.
11. Daser A., Thangavelu M., Pannell R., Forster A., Sparrow L., Chung G. et al. Interrogation of genomes by molecular copy-number counting (MCC). *Nat Methods*. 2006; 3(6): 447-53. <https://dx.doi.org/10.1038/nmeth880>.
12. Treff N.R., Tao X., Ferry K.M., Su J., Taylor D., Scott R.T. Development and validation of an accurate quantitative real-time polymerase chain reaction-based assay for human blastocyst comprehensive chromosomal aneuploidy screening. *Fertil. Steril.* 2012; 97(4): 819-24. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.01.115>.
13. Fiorentino F., Biricik A., Bono S., Spizzichino L., Cotroneo E., Cottone G. et al. Development and validation of a next-generation sequencing-based protocol for 24-chromosome aneuploidy screening of embryos. *Fertil. Steril.* 2014; 101(5): 1375-82. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.01.051>.
14. Aleksandrova N., Shubina E., Ekimov A., Kodyleva T., Mukosey I., Makarova N., Kulakova E., Levkov L., Trofimov D., Sukhikh G. Comparison of the results of preimplantation genetic screening obtained by a-CGH and NGS methods from the same. *Gynecol. Endocrinol.* 2016; 32(Suppl. 2): 1-4. <https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2016.1232892>.
15. Александрова Н.В., Шубина Е.С., Екимов А.Н., Кодылева Т.А., Мукозей И.С., Макарова Н.П., Кулакова Е.В., Левков Л.А., Барков И.Ю., Трофимов Д.Ю., Суших Г.Т. Молекулярная биология. 2017; 51(2): 308-13. [Aleksandrova 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.Y., Trofimov D.Y., Sukhikh G.T. Comparative results of preimplantation genetic screening by array comparative genomic hybridization and new-generation sequencing. *Mol. Biol.* 2017; 51(Suppl. 2): 308-13. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.7868/S0026898417010025>.
16. Demko Z.P., Simon A.L., McCoy R.C., Petrov D.A., Rabinowitz M. Effects of maternal age on euploidy rates in a large cohort of embryos analyzed with 24-chromosome single-nucleotide polymorphism-based preimplantation genetic screening. *Fertil. Steril.* 2016; 105(5): 1307-13. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.01.025>.
17. McCoy R.C., Demko Z.P., Ryan A., Banjevic M., Hill M., Sigurjonsson S. et al. Evidence of selection against complex mitotic-origin aneuploidy during preimplantation development. *PLOS Genet.* 2015; 11(10): e1005601. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1005601>.
18. Fragouli E., Wells D. Aneuploidy in the human blastocyst. *Cytogenet. Genome Res.* 2011; 133(2-4): 149-59. <https://dx.doi.org/10.1159/000323500>.

Поступила 15.12.2020

Принята в печать 24.12.2020

Received 15.12.2020

Accepted 24.12.2020

Сведения об авторах:

Екимов Алексей Николаевич, врач лабораторный генетик лаборатории молекулярно-генетических методов, ФГБУ «НМИЦ АГП имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. Тел.: +7(495)531-44-44. E-mail: a_ekimov@orapina4.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Александрова Наталья Владимировна, д.м.н., старший научный сотрудник НОЦ ВРТ с клиническим отделением имени Ф. Паулсена, ФГБУ «НМИЦ АГП имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. Тел.: +7(495)531-44-44. E-mail: alexnat1@yandex.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Шубина Екатерина Сергеевна, зав. лабораторией анализа геномных данных, ФГБУ «НМИЦ АГП имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. Тел.: +7(495)531-44-44. E-mail: e_shubina@orapina4.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Гольцов Андрей Юрьевич, научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических методов, ФГБУ «НМИЦ АГП имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. Тел.: +7(495)531-44-44. E-mail: andrey.goltsov@gmail.com. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Ритчер Ольга Владимировна, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярно-генетических методов, ФГБУ «НМИЦ АГП имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. Тел.: +7(495)531-44-44. E-mail: o_ritcher@orapina4.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Назаренко Татьяна Алексеевна, д.м.н., профессор, директор института репродуктивной медицины, ФГБУ «НМИЦ АГП имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. Тел.: +7(495)531-44-44. E-mail: t_nazarenko@orapina4.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:

Alexey N. Ekimov, clinical geneticist of Molecular Genetics Laboratory, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. Tel.: +7(495)531-44-44. E-mail: a_ekimov@oparina4.ru. 4, Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation.

Natalia V. Aleksandrova, M.D., leading researcher, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. Tel.: +7(495)531-44-44. E-mail: alexnat1@yandex.ru. 4, Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation.

Ekaterina S. Shubina, Head of Genomic Data Analysis Laboratory, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. Tel.: +7(495)531-44-44. E-mail: e_shubina@oparina4.ru. 4, Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation.

Andrey Yu. Goltsov, researcher at Molecular Genetics Laboratory, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. Tel.: +7(495)531-44-44. E-mail: andrey.goltsov@gmail.com. 4, Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation.

Olga V. Ritsher, clinical laboratory diagnostician of Molecular Genetics Laboratory, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. Tel.: +7(495)531-44-44. E-mail: o_ritsher@oparina.ru. 4, Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation.

Tatiana A. Nazarenko, Dr. Med. Sci., professor, Head of Institute of Reproductive Medicine, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. Tel.: +7(495)531-44-44. E-mail: t_nazarenko@oparina4.ru. 4, Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation.

Бионика Media