



УДК 591.16, 57.089.34, 57.087.3

EDN JXWUVM

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-283-293>

## Методы оценки доимплантационных эмбрионов человека

Т. С. Архипова<sup>1</sup>, А. Ф. Сайфитдинова<sup>✉1, 2</sup>

<sup>1</sup> Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,  
191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

<sup>2</sup> Международный центр репродуктивной медицины,  
197350, Россия, г. Санкт-Петербург, Комендантский пр., д. 53/1

### Сведения об авторах

Татьяна Сергеевна Архипова, SPIN-код: [2724-6121](#), ORCID: [0009-0004-1368-3127](#), e-mail: [archipova\\_tanya@mail.ru](mailto:archipova_tanya@mail.ru)

Алсу Фаритовна Сайфитдинова, SPIN-код: [5114-4844](#), ORCID: [0000-0002-1221-479X](#), e-mail: [saitfitdinova@mail.ru](mailto:saitfitdinova@mail.ru)

**Для цитирования:** Архипова, Т. С., Сайфитдинова, А. Ф. (2024) Методы оценки доимплантационных эмбрионов человека. *Интегративная физиология*, т. 5, № 3, с. 283–293. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-283-293>  
EDN JXWUVM

**Получена** 17 февраля 2024; прошла рецензирование 25 апреля 2024; принята 28 апреля 2024.

**Финансирование:** Исследование не имело финансовой поддержки.

**Права:** © Т. С. Архипова, А. Ф. Сайфитдинова (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](#).

**Аннотация.** Обзор посвящен современным методам оценки потенциала гармоничного развития доимплантационных эмбрионов человека, нашедшим применение в клинической практике программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Кратко описаны исторические аспекты развития методов ВРТ и постепенного появления необходимости разработки и внедрения различных методов оценки эмбрионов. Отдельно рассмотрены методы оценки морфологических характеристик эмбрионов, подробно описаны характерные особенности морфологии, учитываемые при классической оценке эмбрионов по Гарднеру, и описан современный метод морфокинетической оценки по специально установленным морфокинетическим параметрам, схожим с морфологическими параметрами, на основании time-lapse микроскопии, машинной обработки данных с использованием искусственного интеллекта и нейросетей. В обзоре также представлены методы молекулярно-генетического анализа клеток эмбриона на основе биопсии и новейшие малоинвазивные подходы, применяемые в ситуациях, когда существенно повышен риск выявления численных хромосомных аномалий, переноса анеуплоидного эмбриона и, как следствие, рождения больного ребенка. Описаны инновационные методы оценки метаболомного статуса, представляющие возможность оценивать потенциал эмбриона через анализ его жизнедеятельности путем неинвазивного метаболомного профилирования культуральных сред Рамановской (оптической) спектроскопии и дальнейших комплексных исследований метаболитов.

**Ключевые слова:** экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), морфокинетика эмбрионального развития, time-lapse, преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ), метаболизм эмбриона

# Methods for evaluating preimplantation human embryos

T. S. Arkhipova<sup>1</sup>, A. F. Saifitdinova<sup>✉1,2</sup>

<sup>1</sup> Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika River Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

<sup>2</sup> International Centre for Reproductive Medicine, 53/1 Komendantskiy Ave., Saint Petersburg 197350, Russia

## Authors

Tatyana S. Arkhipova, SPIN: 2724-6121, ORCID: 0009-0004-1368-3127, e-mail: [archipova\\_tanya@mail.ru](mailto:archipova_tanya@mail.ru)

Alsu F. Saifitdinova, SPIN: 5114-4844, ORCID: 0000-0002-1221-479X, e-mail: [satifitdinova@mail.ru](mailto:satifitdinova@mail.ru)

**For citation:** Arkhipova, T. S., Saifitdinova, A. F. (2024) Methods for evaluating preimplantation human embryos. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 283–293. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-283-293> EDN JXWUVM

**Received** 17 February 2024; reviewed 25 April 2024; accepted 28 April 2024.

**Funding:** The study did not receive any external funding.

**Copyright:** © T. S. Arkhipova, A. F. Saifitdinova (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

**Abstract.** The review focuses on modern methods of assessing the potential for harmonious development of preimplantation human embryos, which are commonly utilized in assisted reproductive technology (ART) clinical practice. The article briefly outlines historical development of ART techniques and the growing need for various embryo evaluation methods. The review examines morphological assessment techniques, detailing the characteristic features considered in the classical Gardner embryo grading system. Additionally, it describes the modern approach of morphokinetic assessment, which employs time-lapse microscopy and artificial intelligence with neural networks for processing data, based on morphokinetic parameters similar to those used in morphology. The review also highlights biopsy-based molecular genetic analysis methods and the latest minimally invasive approaches, particularly for detecting numerical chromosomal abnormalities. These methods help reduce the risk of transferring aneuploid embryos and prevent the birth of affected children. Furthermore, innovative methods for evaluating embryo metabolism are explored, including non-invasive metabolomic profiling of culture media via Raman (optical) spectrometry and subsequent comprehensive analysis of metabolites to assess embryo viability.

**Keywords:** *in vitro* fertilization (IVF), embryonic morphokinetics, time-lapse, preimplantation genetic testing (PGT), embryo metabolism

## Введение

С внедрением в репродуктивную медицину методов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) возникла необходимость оценки качества доимплантационных эмбрионов человека с точки зрения их потенциала к успешной имплантации, гармоничному эмбриогенезу и дальнейшему развитию в клинически здорового ребенка. Первоначально для повышения вероятности имплантации в полость матки переносили несколько эмбрионов, что приводило к многоплодным беременностям. Это влекло за собой перинатальные и неонатальные проблемы, а также повышало вероятность рождения детей с генетическими и хромосомными патологиями, поскольку их ранняя диагностика при многоплодной беременности затруднена. Поэтому встал вопрос о выборе для переноса наиболее перспективного эмбриона (elective single embryo transfer, eSET). Развитие и совершенствование методов криоконсервации позволило сохранять остальные эмбрионы для последующего использования, а внедрение преимплантационного

генетического тестирования (ПГТ) позволило выбирать эмбрион с наибольшим потенциалом к имплантации (Gerris 1999; Lee 2016). Это привело к разработке и внедрению в практику лабораторий различных методов оценки доимплантационных эмбрионов человека.

## Морфология и морфокинетика

Первым доступным методом была визуальная оценка эмбриона. Существует большое количество морфологических параметров для оценки качества эмбриона, например, *число клеток* на определенной стадии может иметь прямую взаимосвязь с потенциалом к имплантации. Также важны время и синхронность делений дробления. Еще в работах Роберта Эдвардса было показано, что эмбрионы, достигшие 8-клеточной стадии через 55 часов, имплантируются с большей вероятностью по сравнению с эмбрионами, достигшими этой же стадии через 56 часов (Edwards 1984).

При поддержке ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) в 2010 г.

в Стамбуле собрались специалисты для выработки консенсуса по оценке развития эмбрионов (The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting). На встрече было принято сразу несколько со-

глашений: «О временных параметрах этапов и ожидаемых стадиях развития эмбрионов *in vitro*» (табл. 1), «О системе оценки эмбрионов на стадии дробления» (табл. 2) и «О системе оценки эмбрионов 4 дня» (табл. 3).

Табл. 1. Время оценки морфологии и ожидаемая стадия развития

Тип наблюдения	Время после инсеминации (в часах)	Ожидаемая стадия развития
Контроль оплодотворения	17 ± 1	Стадия пронуклеусов
Раннее дробление	26 ± 1 для ИКСИ 28 ± 1 для ЭКО	2 бластомера
Оценка на 2-й день	44 ± 1	4 бластомера
Оценка на 3-й день	68 ± 1	8 бластомеров
Оценка на 4-й день	92 ± 2	Морула
Оценка на 5-й день	116 ± 2	Бластула

Table 1. Morphology assessment time and expected developmental stage

Observation type	Time after insemination (hours)	Expected stage of development
Fertilization control	17 ± 1	Pronucleus stage
Early cleavage	26 ± 1 for ICSI 28 ± 1 for IVF	2 blastomeres
Day 2 Assessment	44 ± 1	4 blastomeres
Day 3 Assessment	68 ± 1	8 blastomeres
Day 4 Assessment	92 ± 2	Morula
Day 5 Assessment	116 ± 2	Blastula

Табл. 2. Характеристика эмбрионов на стадии дробления

Grade	Рейтинг	Описание эмбриона
1	Хороший	< 10% фрагментации. Размер бластомеров специфичен для данной стадии. Многоядерность отсутствует
2	Удовлетворительный	10–25% фрагментации. Размер большинства бластомеров специфичен для данной стадии. Многоядерность отсутствует
3	Плохой	> 25% фрагментации. Размер бластомеров не специфичен для данной стадии. Отмечается многоядерность

Table 2. Characteristics of embryos at the cleavage stage

Grade	Rating	Description of the embryo
1	Good	< 10% fragmentation. The size of blastomeres is appropriate for this stage. No multinucleation
2	Satisfactory	10–25% fragmentation. The size of most blastomeres is appropriate for this stage. No multinucleation
3	Poor	> 25% fragmentation. The size of the blastomeres is not appropriate for this stage. Multinucleation is observed.

Табл. 3. Характеристика эмбрионов 4 дня развития

Grade	Рейтинг	Описание эмбриона
1	Хороший	Вступил в 4-й раунд дробления, все бластомеры вовлечены в компактизацию (M1)
2	Удовлетворительный	Вступил в 4-й раунд дробления, большинство бластомеров компактизируются (M2)
3	Плохой	Меньше половины объема эмбриона вовлечено в компактизацию, остаются отдельные бластомеры (M3)

Table 3. Characteristics of embryos on days 4 of development

Grade	Rating	Description of the embryo
1	Good	Entered the 4 <sup>th</sup> cleavage, all blastomeres involved in compaction (M1)
2	Satisfactory	Entered the 4 <sup>th</sup> cleavage, most blastomeres compacted (M2)
3	Poor	Less than half of the embryo volume is involved in compaction, with separate blastomeres remaining (M3)

В норме, у эмбриона наилучшего качества должна отсутствовать *фрагментация* (отделенная от клетки часть цитоплазмы без генетического материала, окруженная мембраной). Однако иногда при митотических делениях от клеток могут отшнуровываться мелкие цитоплазматические фрагменты, не являющиеся полноценными клетками и часто лишенные ядра. Это приводит к истощению эмбриона из-за потери порции цитоплазмы, что вызывает утрату части основных органелл, дефицит белков и различных РНК. Присутствие существенного количества фрагментов может препятствовать установлению контактов между бластомерами, что затрудняет компактизацию эмбриона (Korsak 2022).

Описание эмбриона включает: количество бластомеров, оценку качества (grade) и характеристику. Например, восемь бластомеров, grade 3, фрагментация, многоядерность.

*Размер бластомеров* также является важным параметром. Из-за особенностей оогенеза человека и небольшого количества вителлогенина в цитоплазме ооцита дробление, в норме, должно быть полным и равномерным, а асимметричное деление приводит к образованию отличающихся друг от друга бластомеров и свидетельствует о нарушениях митоза. Целесообразно обращать внимание как на размеры бластомеров, так и на синхронность делений дробления: так, бластомеры эмбрионов на стадии 2, 4, 8 клеток, в норме, должны иметь равный размер, а бластомеры, имеющие 3, 5, 6, 7 клеток, могут иметь различия в размерах, т. к. не все клетки одновременно завершили цитокинез (Mekina 2021).

*Количество ядер в клетках бластомеров* — это еще один важный критерий отбора эмбрио-

нов, и это нарушение достаточно трудно обнаружить во время наблюдения в микроскоп, т. к. на протяжении клеточного цикла ядра не всегда оформлены. Помимо этого, на визуализацию ядерной оболочки могут влиять особенности цитоплазмы. В норме один бластомер должен иметь одно ядро, но может встречаться двуядерность или многоядерность. Причиной этому служат незавершенный митоз (без цитокинеза), нарушения анафазы, аномалии формирования ядерной оболочки, нарушение расхождения хромосом (Korsak 2022). Также может встречаться триполярный (мультиполярный) митоз, вызванный чрезмерным количеством centrosom (проникновение двух гаплоидных сперматозоидов или одного диплоидного, имеющего такой набор в результате ошибки MI или MII), при котором вместо двух дочерних клеток образуются три и более. Такие зиготы могут развиваться в морфологически нормальные эмбрионы, однако иметь диплоидный, триплоидный или иной, несовместимый с нормальным развитием, набор хромосом. Иногда две дочерние клетки сливаются в одну (двуядерную) клетку. Такое явление называют обратным дроблением (обратным митозом) или слиянием бластомеров, оно может происходить как при дроблении клеток с нормальным набором хромосом, так и после деления с образованием трехполюсного веретена. Несмотря на сниженный потенциал к имплантации подобных эмбрионов, в отдельных случаях можно ожидать рождения здорового ребенка (Campbell 2018; Kalatova 2015).

На стадии морулы (от лат. *morum* — тутовая ягода) в состоящем из 10–12 клеток эмбрионе начинается процесс *компактизации*, границы

клеток становятся плохо различимы, формируется многоклеточный округлый, похожий на ягоду тутовника, эмбрион. При оценке эмбрионов четвертого дня развития важна своевременная компактизация. Дальнейшие деления приводят к увеличению морулы за счет деления клеток до 16–32 и восстановления в клеточном цикле фазы роста между последовательными делениями за счет активации собственного генома. Клетки не только обеспечивают рост цитоплазмы и восстановление органелл, но и начинают формировать внеклеточный матрикс. Начинается процесс *кавитации* — формирование полости путем нагнетания жидкости за счет повышения осмотического давления. В результате этого процесса образуется бластоцель, и постепенно истончается блестящая оболочка (*zona pellucida*, ЗР).

Приведенная в таблице 3 система близка к предложенной ранее классификации Джун Тао с соавторами, в которой описаны четыре категории морул. Она также построена на процентном количестве вовлеченных в компактизацию бластомеров (Тао et al. 2002).

*Степень экспансии (расширение) бластоцисты* и размер бластоцеля характеризуют эту стадию развития эмбриона. Учитывается также вылупление бластоцисты из оболочки (*хэтчинг*). Этот процесс делят на шесть стадий: I — размер

бластоцеля < 50% объема эмбриона; II — бластоцель занимает ~ 50–80% объема эмбриона; III — бластоцель занимает > 80% объема эмбриона, это полноценная бластоциста; IV — бластоциста экспандирована, начинается истончение ЗР; V — начинается хэтчинг; VI — завершение хэтчинга (Gardner 1999). Предложенный более 20 лет назад *метод оценки морфологии* Дэвида Гарднера до сих пор является наиболее распространенным. Система состоит из числовой оценки степени развития бластоцисты (1–6) и двух буквенных оценок качества трофэктодермы (ТЭ) и внутренней клеточной массы (ВКМ) от А до С, где наилучшее развитие обозначают буквой А (Gardner 2000).

Морфология ВКМ по Гарднеру:

А — ВКМ состоит из большого количества плотно упакованных клеток;

В — меньше сгруппированных клеток;

С — очень мало клеток, клетки не сгруппированы;

Морфология ТЭ по Гарднеру:

А — много клеток, формирующих плотный слой клеток;

В — меньшее количество клеток, формирующих рыхлый слой клеток;

С — единичные клетки серповидной формы.

На рисунке 1 показана система оценивания эмбрионов 4 стадии.

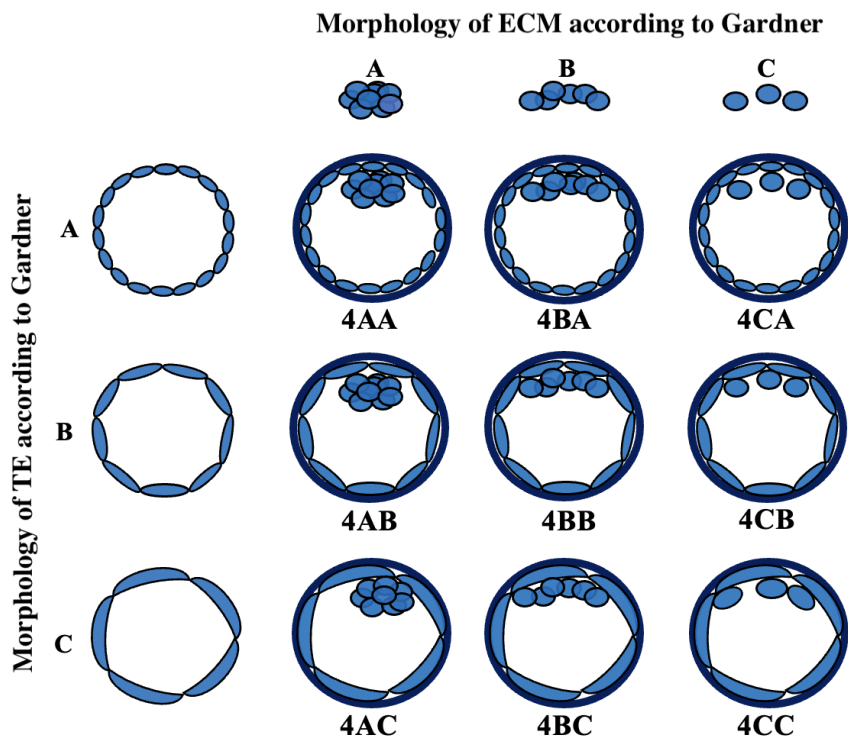


Рис. 1. Классификация бластоцисты по Гарднеру на примере 4 стадии развития. ECM — внутренняя клеточная масса, TE — трофэктодерма

Fig. 1. Gardner's blastocyst grading system, stage 4. ECM — extracellular matrix, TE — trophectoderm

Формализация оценки морфологии эмбриона позволила применить для ее анализа искусственный интеллект (ИИ) на основе внедрения систем покадровой визуализации (time-lapse). Морфокинетика — изменение морфологии со временем. Она позволяет учитывать скорость достижения эмбрионом определенных стадий развития и длительность нахождения на каждом этапе и регистрировать особенности развития (обратное дробление, многоядерность, вакуолизация, асинхронность деления) (Campbell 2018). Встроенная в time-lapse инкубатор камера создает серию снимков с заданной периодичностью и объединяет получившиеся фотографии в видео. Такая технология основана на цейтраферной (от нем. *zeitraffer* — группировать время) съемке, когда ведется запись с равными временными интервалами между фиксацией кадров.

Внедрение time-lapse микроскопии непосредственно в инкубаторы расширяет возможности наблюдения за эмбрионами, а также позволяет поддерживать оптимальные условия на протяжении всего культивирования, т. к. наблюдение ведется одновременно с культивированием (Korsak 2022). В дополнение к time-lapse инкубаторам были разработаны методы формализации морфокинетических параметров, такие как: время с момента инсеминации ( $t_0$ ) до исчезновения пронуклеусов (tPNf; от англ. *time to pronuclear fading*); образования двух ( $t_2$ ), трех ( $t_3$ ), четырех ( $t_4$ ), пяти клеток ( $t_5$ ) и т. д.; морулы (tM); начала бластуляции (tSB) и формирования полной бластоцисты (tB) (Campbell 2018). Это позволило внедрить в практику машинную обработку данных и нейросети, для обучения которых использовали большое количество циклов с известным исходом. Компьютерные программы позволяют собирать и хранить данные, аннотировать эмбрионы, выбирать эмбрион с наибольшим потенциалом, стандартизировать оценку качества эмбрионов, определять оптимальное время для биопсии и заморозки без изъятия из инкубатора.

Однако морфокинетической оценки оказывается недостаточно, т. к. подобные системы способны фиксировать наличие митотических ошибок, вызванных нарушениями первых делений дробления, но не могут получить информацию о нарушениях сегрегации хромосом в мейозе, что часто зависит от возраста матери.

### Преимплантационное генетическое тестирование

Для решения задач, связанных с хромосомными аномалиями, были разработаны методы преимплантационного генетического тестиро-

вания (ПГТ), позволяющие предупредить рождение детей с наследственными заболеваниями.

**Полимеразная цепная реакция.** История генетического тестирования эмбрионов началась с работы Алана Хэндсайда, который методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) смог установить пол эмбриона в семье с рецессивным заболеванием, сцепленным с X-хромосомой, в результате чего родился здоровый ребенок (Handyside 1990).

Метод ПЦР может быть основан на прямом определении мутации, когда амплифицируют измененный участок ДНК, или на анализе высокополиморфных коротких tandemных повторов (*short tandem repeats*, STR), маркирующих отдельные хромосомы. Применение STR-маркеров началось в 90-х гг. XX века криминалистическими лабораториями США и Великобритании с последующей разработкой базы данных CODIS (*Combined DNA Index System*). Позднее он стал применяться в медицине (Altarescu et al. 2013; Findlay et al. 1998). При проведении анализа используют сразу несколько STR-маркеров, которые подбирают индивидуально. Совместное применение ПЦР и методов секвенирования позволяет подтверждать наличие определенного варианта гена в геноме эмбриона. Методом ПЦР можно регистрировать наиболее частые анеуплоидии, определять пол, диагностировать моногенные заболевания, однако он имеет ограничения, связанные с исходным количеством материала и относительно малыми размерами исследуемых областей генома.

Метод *флюоресцентной гибридизации in situ* (*fluorescent in situ hybridization*, FISH) основан на физической локализации меченого зонда на цитогенетическом препарате. Он позволяет увидеть численные аномалии половых хромосом (Griffin 1991), а также определить количество отдельных аутосом в ядре исследуемой клетки (Munné 1993). Изучение полярных телец позволило регистрировать ошибки первого и второго делений мейоза (Kuliev et al. 1999; Verlinsky et al. 1996). Рутинно FISH позволяет определить до 12 разных хромосом (Korsak 2022), а также выбрать эмбрионы со сбалансированным набором хромосом у родителей, имеющих транслокации или другие хромосомные перестройки (Puppo et al. 2023; Tonyan et al. 2024). Поскольку метод FISH не основан на косвенных данных о геноме, а позволяет непосредственно определить положение локусов в ядре клетки, то он дает адекватное представление о ploидности клеток, однако проанализировать можно ограниченное число хромосом.

Увеличить глубину анализа позволило развитие методов *полногеномной амплификации ДНК* (whole genome amplification, WGA). Они позволяют масштабировать малые количества ДНК, что расширяет спектр доступных молекулярно-генетических методов (Saifitdinova et al. 2023).

Вместе с тем совершенствовались методы культивирования эмбрионов, и если при первых попытках ЭКО эмбрионы сразу переносили в полость матки, то постепенно появились методы культивирования до пятого дня развития. Продленное культивирование позволило биопсировать большее количество клеток для амплификации ДНК и отсеивать эмбрионы с нарушениями развития, которые не доживали до стадии бластоцисты (Korsak 2022).

Получение дополнительного времени на проведение анализа и возможность увеличить количество ДНК для анализа с использованием WGA открыли возможности применения для ПГТ *сравнительной геномной гибридизации* (comparative genomic hybridization, CGH) на микроматрицах (array-CGH). Этот метод позволяет анализировать все хромосомы и обнаруживать делеции и дупликации в геноме (Lebedev et al. 2021; Wells et al. 2002).

Метод на основе *микроматриц с определением однонуклеотидных замен* (single nucleotide polymorphism array, SNP array) позволяет выявлять родительское происхождение хромосом. При таком исследовании проводят тестирование на микроматрицах как родительской, так и эмбриональной ДНК с последующим сравнением, что позволяет определить родительское происхождение участков хромосом у эмбриона, картировать их, поэтому его назвали кариомэппинг (кариомэппинг). Он позволяет выявить анеуплоидии, структурные перестройки, триплоидии, однородительские дисомии, происхождение хромосомного дисбаланса и мозаицизм. Кариомэппинг может быть альтернативой STR анализу в определении родительского происхождения хромосом для косвенной диагностики носительства моногенных заболеваний (Thornhill 2015).

Метод *секвенирования нового поколения* (next generation sequencing, NGS) позволяет быстро расшифровывать предварительно фрагментированную ДНК, картировать ее методами биоинформатики и рассчитать соотношение в клетках различных участков ДНК. NGS является высокочувствительным методом даже при использовании его с низким покрытием (low coverage), что позволяет уверенно определять анеуплоидии и сегментные хромосомные на-

рушения (Zhang 2011). С помощью NGS можно исследовать молекулярный кариотип клеток образца и выявлять мозаицизм достаточно быстро и относительно дешево.

Следующим этапом развития ПГТ стало снижение инвазивности. Был разработан метод *анализа внеклеточной ДНК*, находящейся в полости бластоцеля. В 2016 г. Люка Джанароли представил сравнение ДНК из жидкости бластоцеля (вероятно, попадающей в бластоцель из погибших клеток) с известными результатами молекулярного кариотипа клеток ТЭ и показал, что они совпали в 97,1% случаев. Это значит, что исследование внеклеточной ДНК, биопсированной из полости эмбриона, в значительной степени представляет хромосомный статус всего эмбриона (Magli 2016).

Впоследствии было разработано *полностью неинвазивное ПГТ* (non-invasive PGT, niPGT), основанное на анализе внеклеточной ДНК из культуральной среды. Исследования показывают возможность частичного или почти полного совпадения результатов niPGT и ПГТ клеток ТЭ (Rubio et al. 2020; Vera-Rodriguez 2018). Дополнительно к культуральной внеклеточной ДНК может использоваться жидкость бластоцеля, однако и это может не дать результата, если ни одна из клеток не погибла (Gianaroli 2014; Palini 2013; Zhigalina 2016). Кроме того, остается открытым вопрос инвазивности данных процедур, так как они требуют дополнительных манипуляций с эмбрионами для удаления остатков ооцит-кумуляного комплекса и сперматозоидов, а в отдельных случаях и прокол бластоцисты иглой для забора жидкости (Cinnioglu et al. 2023; Kakourou et al. 2022).

## Метабомика

Культуральная среда хранит не только ДНК, но и следы погибших клеток, а также метаболиты, спектр которых зависит от физиологического состояния клеток эмбриона. Это привело к появлению методов оценки развития доимплантационных эмбрионов на основе изучения состава среды.

Известно, что в естественном цикле эмбрион перемещается по маточной трубе, по мере продвижения к полости матки меняется его окружение (уровень pH и осмолярность). За развитие эмбриона от начала дробления до старта компактизации отвечает материнская мРНК и компоненты, накопленные яйцеклеткой. На этапе дробления питание осуществляется за счет накопленного в цитоплазме энергоемкого вителлогенина. Далее восстанавливается работа

митохондрий, на стадии 4–8 клеток включается собственный геном эмбриона и скорость метаболизма увеличивается, требуется переключение на другие источники энергии. За время своего развития эмбрион использует четыре типа дыхания (за счет пирувата, лактата, глюкозы и аминокислот) и способен переключаться между ними (Li 2017).

Ранние ооциты содержат комплекс органелл, называемый тельцем Бальбиани (митохондрии, комплекс Гольджи, шероховатый и гладкий эндоплазматический ретикулум (ЭПР), центриоли), образующийся во время оогенеза. Формирование тельца Бальбиани приводит к определению полюсов: анимального, содержащего ядро, и вегетативного, где формируется тельце Бальбиани. По мере созревания ооцита тельце Бальбиани распадается, митохондрии активируются и изменяется их морфология. От их правильной работы зависит потенциал к имплантации эмбриона (Jansen 2000; Marlow 2010). Все клеточные процессы требуют большого количества аденозинтрифосфата (АТФ), получаемого в результате окислительного фосфорилирования в митохондриях. Недостаток АТФ во время оогенеза и эмбриогенеза может привести к нарушениям дробления. С другой стороны, появляется все больше данных, подтверждающих снижение качества ооцитов у женщин старшего репродуктивного возраста, связанное с избытком митохондрий (Qi 2019).

Знание этой информации позволило разработать метод неинвазивного метаболомного профилирования культуральных сред с использованием Рамановской (оптической) спектроскопии, основанный на регистрации изменения спектров комбинационного рассеяния света в процессе смены эмбрионом типов дыхания. Было предложено рассматривать пируват как

индикатор жизнеспособности, поскольку у трехдневных эмбрионов, успешно имплантировавшихся в дальнейшем, наблюдалось сниженное содержание пирувата в культуральной среде по сравнению с не имплантировавшимися эмбрионами (Zhao 2013).

Эмбрионам для развития необходимо определенное количество ключевых питательных веществ, изменение уровней которых может быть предложено в качестве индикатора метаболической активности (*комплексное исследование метаболитов*). Все методы исследования оценки метаболомного статуса эмбрионов отражены в таблице 4.

Дальнейшие исследования, с разработкой надёжных протоколов, определенно позволят методам на основе метаболомики войти в практику клинической эмбриологии (Uyar 2014).

### Заключение

Подводя итог, можно сказать, что на данный момент развиваются разнообразные методы оценки доимплантационных эмбрионов человека, позволяющие в перспективе выбирать различные стратегии отбора эмбриона для повышения шансов на успешный исход цикла ЭКО.

Рассмотренные в статье методы оценки морфологии и морфокинетики открывают возможности выбора эмбриона, наиболее успешно преодолевшего доимплантационные этапы развития. Постоянно развивающиеся методы генетического тестирования, как инвазивные, так и малоинвазивные, позволяют с высокой вероятностью идентифицировать эмбрионы с хромосомными нарушениями. Прогрессивные методы оценки метаболомного статуса открывают перспективу проверки жизнеспособности и потенциала к имплантации эмбрионов человека. Внедрение

Табл. 4. Метаболиты и методы их исследования

Анализируемый метаболит	Метод анализа
Углеводный обмен: пируват, лактат, глюкоза	Ультрамикрорфлуоресцентный анализ
Обмен аминокислот: глутамин, аргинин, метионин, аланин, аспарагин, серин, глицин, лейцин	Высокоэффективная жидкостная хроматография
Глутамат	Протонный ядерный магнитный резонанс

Table 4. Metabolites and methods for their study

Metabolite analysed	Method of analysis
Carbohydrate metabolism: pyruvate, lactate, glucose	Ultramicrofluorescence analysis
Amino acid profile: glutamine, arginin, methyonin, alanine, asparagin, serine, glycine, leucine	High performance liquid chromatography
Amino acid profile: glutamine, arginin, methyonin, alanine, asparagin, serine, glycine, leucine	Proton nuclear magnetic resonance



всего комплекса инновационных подходов открывает новые перспективы для изучения различных аспектов клинической эмбриологии и повышения эффективности лечения бесплодия.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

### Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

### Вклад авторов

а. Архипова Татьяна Сергеевна — написание и редактирование текста;  
б. Сайфитдинова Алсу Фаритовна — концепция и структура обзора, редактирование текста.

### Author Contributions

a. Tatyana S. Arkhipova — writing and editing;  
b. Alsu F. Saifitdinova — review concept and structure, editing.

### References

- Altarescu, G., Zeevi, D. A., Zeligson, S. et al. (2013) Familial haplotyping and embryo analysis for Preimplantation genetic diagnosis (PGD) using DNA microarrays: A proof of principle study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 30, no. 12, pp. 1595–1603. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0044-8> (In English)
- Campbell, A., Fishel, S. (2018) *Atlas embriologii. Posledovatel'nye pokadrovye izobrazheniya (timelaps-tehnologiya) [Atlas of Time lapse embryology]*. Moscow: MEDpress-inofrm Publ., 120 p. (In Russian)
- Cinnioglu, C., Glessner, H., Jordan, A., Bunshaft, S. (2023) A systematic review of noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy. *Fertility and Sterility*, vol. 120, no. 2, pp. 235–239. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.06.013> (In English)
- Edwards, R. G., Fishel, S. B., Cohen, J. et al. (1984) Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility. *Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer*, vol. 1, no. 1, pp. 3–23. <https://doi.org/10.1007/BF01129615> (In English)
- Findlay, I., Tóth, T., Matthews, P. et al. (1998) Rapid trisomy diagnosis (21, 18, and 13) using fluorescent PCR and short tandem repeats: Applications for prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 15, no. 5, pp. 266–275. <https://doi.org/10.1023/a:1022536309381> (In English)
- Gardner, D. K., Schoolcraft, W. B. (1999) Culture and transfer of human blastocysts. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*, vol. 11, no. 3, pp. 307–311. <https://doi.org/10.1097/00001703-199906000-00013> (In English)
- Gardner, D. K., Lane, M., Stevens, J. et al. (2000) Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: Towards a single blastocyst transfer. *Fertility and Sterility*, vol. 73, no. 6, pp. 1155–1158. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)00518-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)00518-5) (In English)
- Gerris, J., De Neubourg, D., Mangelschots, K. et al. (1999) Prevention of twin pregnancy after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection based on strict embryo criteria: A prospective randomized clinical trial. *Human Reproduction*, vol. 14, no. 10, pp. 2581–2587. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.10.2581> (In English)
- Gianaroli, L., Magli, M. C., Pomante, A. et al. (2014) Blastocentesis: A source of DNA for preimplantation genetic testing. Results from a pilot study. *Fertility and Sterility*, vol. 102, no. 6, pp. 1692–1699.e6. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.08.021> (In English)
- Griffin, D. K., Handyside, A. H., Penketh, R. J. et al. (1991) Fluorescent in-situ hybridization to interphase nuclei of human preimplantation embryos with X and Y chromosome specific probes. *Human Reproduction*, vol. 6, no. 1, pp. 101–105. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a137241> (In English)
- Handyside, A. H., Kontogianni, E. H., Hardy, K., Winston, R. M. (1990) Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*, vol. 344, no. 6268, pp. 768–770. <https://doi.org/10.1038/344768a0> (In English)
- Jansen, R. P. (2000) Origin and persistence of the mitochondrial genome. *Human Reproduction*, vol. 15, no. 2, pp. 1–10. [https://doi.org/10.1093/humrep/15.suppl\\_2.1](https://doi.org/10.1093/humrep/15.suppl_2.1) (In English)
- Kakourou, G., Mamas, T., Vrettou, C., Traeger-Synodinos, J. (2022) An update on non-invasive approaches for genetic testing of the preimplantation embryo. *Current Genomics*, vol. 23, no. 5, pp. 337–352. <https://doi.org/10.2174/1389202923666220927111158> (In English)
- Kalatova, B., Jesenska, R., Hlinka, D., Dudas, M. (2015) Tripolar mitosis in human cells and embryos: Occurrence, pathophysiology and medical implications. *Acta Histochemica*, vol. 117, no. 1, pp. 111–125. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2014.11.009> (In English)

- Korsak, V. S. (2022) *Rukovodstvo po klinicheskoy embriologii [Guide to Clinical Embryology]*. Moscow: Media Sfera Publ., 250 p. (In Russian)
- Kuliev, A., Rechitsky, S., Verlinsky, O. et al. (1999) Birth of healthy children after preimplantation diagnosis of thalassemias. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 16, no. 4, pp. 207–211. <https://doi.org/10.1023/a:1020316924064> (In English)
- Lebedev, I. N., Karamysheva, T. V., Elisaphenko, E. A. et al. (2021) Prenatal diagnosis of small supernumerary marker chromosome 10 by array-based comparative genomic hybridization and microdissected chromosome sequencing. *Biomedicines*, vol. 9, no. 8, article 1030. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9081030> (In English)
- Lee, A. M., Connell, M. T., Csokmay, J. M., Styer, A. K. (2016) Elective single embryo transfer- the power of one. *Contraception and Reproductive Medicine*, vol. 1, article 11. <https://doi.org/10.1186/s40834-016-0023-4> (In English)
- Li, H., Zhang, S. (2017) Functions of vitellogenin in eggs. *Results and Problems in Cell Differentiation*, vol. 63, pp. 389–401. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-60855-6\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-319-60855-6_17) (In English)
- Magli, M. C., Pomante, A., Cafueri, G. et al. (2016) Preimplantation genetic testing: polar bodies, blastomeres, trophoctoderm cells, or blastocoelic fluid? *Fertility and Sterility*, vol. 105, no. 3, pp. 676–683. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.018> (In English)
- Marlow, F. L. (2010) Oocyte polarity and the embryonic axes: The Balbiani body, an ancient oocyte asymmetry. In: *Maternal control of development in Vertebrates: My mother made me do it!* San Rafael: Morgan & Claypool Life Sciences Publ., [Online]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53189/> (accessed 11.02.2024). (In English)
- Mekina, I. D. (2021) Otsenka kachestva doimplantatsionnykh embrionov cheloveka [Quality assessment of preimplantation human embryos]. In: I. Yu. Kogan (ed.). *Ekstrakorporal'noe oplodotvorenije [In vitro fertilization]*. Moscow: GEOTAR-Media Publ., pp. 249–260. <https://doi.org/10.33029/9704-5941-6-IVF-2021-1-368> (In Russian)
- Munné, S., Lee, A., Rosenwaks, Z., Grifo, J., Cohen, J. (1993) Fertilization and early embryology: Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos. *Human Reproduction*, vol. 8, no. 12, pp. 2185–2191. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a138001> (In English)
- Palini, S., Galluzzi, L., De Stefani, S. et al. (2013) Genomic DNA in human blastocoele fluid. *Reproductive BioMedicine Online*, vol. 26, no. 6, pp. 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.02.012> (In English)
- Puppo, I. L., Tonyan, Z. N., Saifitdinova, A. F. et al. (2023) Evaluating chromosomal segregation in a family where both spouses carry an autosomal translocation. *Reproductive and Developmental Medicine*, vol. 7, no. 3, pp. 189–192. <https://doi.org/10.1097/RD9.0000000000000041> (In English)
- Qi, L., Chen, X., Wang, J. et al. (2019) Mitochondria: The panacea to improve oocyte quality? *Annals of Translational Medicine*, vol. 7, no. 23, article 789. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.12.02> (In English)
- Rubio, C., Navarro-Sánchez, L., García-Pascual, C. M. et al. (2020) Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophoctoderm biopsies from 1301 human blastocysts. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 223, no. 5, pp. 751.e1–751.e13. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.04.035> (In English)
- Saifitdinova, A. F., Pavlova, O. A., Zelinskij, A. A. et al. (2023) Polnogenomnaya amplifikatsiya malykh kolichestv DNK dlya opredeleniya molekulyarnogo kariotipa kletok [Whole genome amplification of small amounts of DNA to determine the molecular karyotype of cells]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 324–334. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-324-334> (In Russian)
- Tao, J., Tamis, R., Fink, K. et al. (2002) The neglected morula/compact stage embryo transfer. *Human Reproduction*, vol. 17, no. 6, pp. 1513–1518. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.6.1513> (In English)
- Thornhill, A. R., Handyside, A. H., Ottolini, C. et al. (2015) Karyomapping-a comprehensive means of simultaneous monogenic and cytogenetic PGD: Comparison with standard approaches in real time for Marfan syndrome. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 32, no. 3, pp. 347–356. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0405-y> (In English)
- Tonyan, Z. N., Puppo, I. L., Saifitdinova, A. F. et al. (2024) Assessment of quadrivalent characteristics influencing chromosome segregation by analyzing human preimplantation embryos from reciprocal translocation carriers. *Comparative Cytogenetics*, vol. 18, pp. 1–13. <https://doi.org/10.3897/compcytogen.18.115070> (In English)
- Uyar, A., Seli, E. (2014) Metabolomic assessment of embryo viability. *Seminars in Reproductive Medicine*, vol. 32, no. 2, pp. 141–152. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1363556> (In English)
- Vera-Rodriguez, M., Diez-Juan, A., Jimenez-Almazan, J. et al. (2018) Origin and composition of cell-free DNA in spent medium from human embryo culture during preimplantation development. *Human Reproduction*, vol. 33, no. 4, pp. 745–756. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey028> (In English)
- Verlinsky, Y., Cieslak, J., Ivakhnenko, V. et al. (1996) Birth of healthy children after preimplantation diagnosis of common aneuploidies by polar body fluorescent in situ hybridization analysis. *Fertility and Sterility*, vol. 66, no. 1, pp. 126–129. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)58399-x](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)58399-x) (In English)

- Wells, D., Escudero, T., Levy, B. et al. (2002) First clinical application of comparative genomic hybridization and polar body testing for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Fertility and Sterility*, vol. 78, no. 3, pp. 543–549. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(02\)03271-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(02)03271-5) (In English)
- Zhang, J., Chiodini, R., Badr, A., Zhang, G. (2011) The impact of next-generation sequencing on genomics. *Journal of Genetics and Genomics*, vol. 38, no. 3, pp. 95–109. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2011.02.003> (In English)
- Zhao, Q., Yin, T., Peng, J. et al. (2013) Noninvasive metabolomic profiling of human embryo culture media using a simple spectroscopy adjunct to morphology for embryo assessment in in vitro fertilization (IVF). *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 14, no. 4, pp. 6556–6570. <https://doi.org/10.3390/ijms14046556> (In English)
- Zhigalina, D. I., Skryabin, N. A., Artyukhova, V. G. et al. (2016) Molecular karyotyping by using cell-free DNA from human blastocoele fluid, embryoblast and trophoblast cells. *Tsitologiya*, vol. 58, no. 6, pp. 488–492. (In English)