

УДК 611.013

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭМБРИОНА ЧЕЛОВЕКА

© А.А. Молдавская, А.В. Горбунов, А.А. Калаев, А.В. Жабина,
А.А. Серебряков, Д.В. Болдырев, А.С. Кондратьев

Ключевые слова: трехмерная эхография; ПГД; aCGH; FISH; гистологический метод; микроскопия; субарахноидальное пространство.
Описаны современные методы исследования эмбриона человека, рассмотрена их диагностическая значимость, проведено их сравнение.

В настоящее время существует множество методов исследования эмбрионов человека, использующихся для исследования аномалий развития эмбриона, его структуры. Наиболее признанными из них являются преимплантационная генетическая диагностика, гистологический метод и трехмерная эхография. Представим каждый из этих методов и проведем их сравнительный анализ.

Преимплантационная генетическая диагностика (ПГД) – исследование эмбрионов человека на наличие хромосомных аномалий перед имплантацией в полость матки. Для анализа проводится биопсия одного бластомера у эмбриона, находящегося на стадии дробления (4–10 бластомеров). При материнском носительстве генетической патологии возможна биопсия 1-го полярного тельца яйцеклетки до оплодотворения. Главное преимущество ПГД заключается в том, что при его использовании отсутствует селективное прерывание беременности, а вероятность рождения ребенка без диагностируемого генетического заболевания достаточно высока.

Наиболее широко используемыми молекулярно-генетическими методами преимплантационной генетической диагностики эмбриона являются методика флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH, fluorescence in situ hybridization) и метод сравнительной геномной гибридизации на микрочипах (aCGH) [1]. Методика FISH – молекулярно-цитогенетический метод, разработанный в 1980-х гг. для выявления определенных последовательностей ДНК на хромосоме. Преимущества FISH-методики заключаются в относительной простоте выполнения, быстроте получения результатов и возможности диагностики наиболее распространенных видов анеуплоидий одновременно. Флюоресцентная гибридизация *in situ* – комбинация методов цитогенетики и молекулярной генетики. С помощью данного метода можно идентифицировать целые хромосомы, хромосомно-специфичные области или однокопийные уникальные последовательности в зависимости от используемых методик маркировки [2]. Особенностью FISH-метода, принципиально отличающей его от классического цитогенетического анализа, является то, что данный метод применим как для метафазных, так и для интерфазных ядер. Это и позволило исполь-

зовать данную методику в преимплантационной генетической диагностике.

Метод сравнительной геномной гибридизации на микрочипах (aCGH – comparative genomic hybridization) является инновационным методом ПГД, т. к. с высокой точностью определяющего хромосомные аномалии до переноса эмбриона в рамках цикла вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [3]. По данным исследований, данный метод обладает высокой чувствительностью и точностью, обеспечивает анализ хромосомных аномалий на высоком уровне разрешения: только для 2,9 % эмбрионов при исследовании результат анализа не был получен, а уровень ошибки составил 1,9 % [4]. Рассмотрев особенности данного метода исследования, можно сделать вывод, что метод aCGH позволяет произвести наиболее полное исследование хромосом как с точки зрения их числа, так и структурно. В отличие от метода FISH, который исследует лишь 9–12 пар хромосом, инновационный метод ПГД позволяет провести исследование всех 23 пар хромосом, что является значительным преимуществом [5].

Следующим методом исследования эмбриона человека является *трехмерная эхография* (объемная ультрасонография, 3D УЗИ). Эта современная технология создания объемного изображения исследуемого объекта, которая проводится в двух режимах: в режиме 3D (static) – статической трехмерной реконструкции получения изображения и в режиме 4D (realtime) – изображения в реальном масштабе времени. Изучив особенности данного метода, можно сделать вывод, что объемная ультрасонография проста, доступна, информативна и не связана с ионизирующим излучением, т. к. имеется возможность проводить морфологическую и функциональную оценку исследуемых структур в полном объеме, позволяя получить изображение эмбриона в режиме реального времени, причем с высоким качеством изображения, достаточным для выявления патологии эмбриона. В частности, данный метод позволяет визуализировать мозговые структуры независимо от расположения эмбриона в полости матки: производится определение объема полости заднего мозга, визуализируется развитие сосудистых сплетений боковых желудочков мозга [6, 7]. Надо отметить, что трехмерная эхография решает важную проблему при получении

клинической информации, с которой сталкивались при использовании двухмерной эхографии: отсутствие возможности сохранения объективных визуальных данных для последующего анализа после исследования [8].

Однако необходимо отметить, что трехмерная эхография с явными преимуществами имеет и некоторые недостатки. Например, трудность получения изображения плода в ряде случаев (при выраженном ожирении беременной, в случае рубцовых изменений передней брюшной стенки).

Наиболее общепризнанным и распространенным, а по сути – классическим методом исследования эмбриона человека является *гистологический метод* – исследование тонкой морфологической структуры клеточного строения тканей организма с целью изучения развития органов и систем, а также выявления и диагностики того или иного заболевания.

Гистологический метод играет важную роль при исследовании эмбриона, позволяя анализировать тканевые и внутриклеточные изменения в процессе онтогенеза структур эмбриона (эмбриогенез) и поставить точный диагноз заболеваний на ранних стадиях их развития.

Так, например, при исследовании строения головного мозга восьминедельного эмбриона данный метод позволяет четко определить закладки отделов мозга, а также артериальную сеть в закладке субарахноидального пространства. Основным гистологическим методом является микроскопирование, позволяющее исследовать строение эмбриона с большой разрешающей способностью [9]. На наш взгляд, единственным недостатком гистологического метода являются временные затраты с момента среза ткани до тщательного его изучения.

Рассмотренные методы исследования эмбриона применяются в различных сочетаниях, подкрепляя и дополняя друг друга, т. к. у каждого метода имеются свои недостатки и преимущества. Например, основной проблемой метода ПГД является малое количество ДНК в биологическом материале, которое возможно получить из раннего эмбриона. Препятствием для использования трехмерной эхографии является ее высокая стоимость и недостаточная изученность морфологических данных. Недостатком гистологического метода являются временные затраты.

В свою очередь, несмотря на внедрение в эмбриологию разнообразных биохимических и технологических методов, необходимых для решения многих вопросов с исследованием эмбриона человека, гистологический метод остается наиболее доступным и позволяет достоверно верифицировать и исследовать структурные особенности и процессы эмбриона человека с высокой точностью. Таким образом, используя гистологический метод, можно получить наиболее полную картину эмбрионального развития на современном этапе изучения человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Екимова Е.В. Роль молекулярных методов диагностики анеуплоидий в преимплантационном скрининге эмбрионов // Проблемы репродукции. 2012. № 6. С. 56-59.
2. Handyside A.H., Pattinson J.K., Penketh R.J., Delhanty J.D., Winston R.M., Tuddenham E.G. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification // Lancet. 1989. V. 1. № 8634. P. 347-349.
3. Зубова Ю.Г. Результаты проведения преимплантационной генетической диагностики эмбрионов методом сравнительной геномной гибридизации на микрочипах // Проблемы репродукции. 2013. № 3. С. 48-50.
4. Gutierrez-Mateo C., Colls P., Sanchez-Garcia J., Escudero T., Prates R., Ketterson K. Validation of microarray comparative genomic hybridization for comprehensive chromosome analysis of embryos // FertilSteril. 2011. V. 95. P. 953-958.
5. Rubio C., Rodrigo L., Mercader A., Mateu E., Buendia P., Pehlivan T., Viloiia T., Delosantos M.J., Simon C., Remold J., Pellicier A. Impact of chromosomal abnormalities on preimplantation embryo development // PrenatDiagn. 2007. V. 27. № 8. P. 748-756.
6. Быков В.Л. Цитология и общая гистология. СПб., 1999. С. 18-19.
7. Воеводин С.М. Нормальная 3D/4D-эхографическая анатомия центральной нервной системы у эмбриона и плода в I триместре беременности // Акушерство и гинекология. 2011. № 4. С. 22-25.
8. Астафьева О.В. Возможности ультразвукового исследования экстраэмбриональных структур в I триместре беременности // Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2005. № 5. С. 33-38.
9. Горбунов А.В. Варианты развития артерий головного мозга человека и цереброваскулярные нарушения: монография. Тамбов: Изд-во Першина П.В., 2009. 310 с.

Поступила в редакцию 19 ноября 2013 г.

Moldavskaya A.A., Gorbunov A.V., Kalaev A.A., Zhabina A.V., Serebryakov A.A., Boldyrev D.V., Kondratyev A.S. MODERN RESEARCH METHODS OF HUMAN EMBRYO

The modern human embryo research methods, the diagnostics values and their comparisons are described.

Key words: three-dimensional sonography; PGD; aCGH; FISH; histological method; microscopy; subarachnoid space.

Молдавская Анна Аркадьевна, Астраханская государственная медицинская академия им. А.В. Луначарского, г. Астрахань, Российская Федерация, доктор медицинских наук, профессор, кафедра анатомии человека, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Moldavskaya Anna Arkadyevna, Astrakhan State Medical Academy, Astrakhan, Russian Federation, Doctor of Medicine, Professor, Human Anatomy Department, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Горбунов Алексей Викторович, Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, г. Тамбов, Российская Федерация, доктор медицинских наук, профессор кафедры глазных и нервных болезней, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Gorbunov Alexey Viktorovich, Tambov State University named after G.R. Derzhavin, Tambov, Russian Federation, Doctor of Medicine, Professor of Eye and Nervous Diseases Department, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Калаев Александр Александрович, Астраханская государственная медицинская академия им. А.В. Луначарского, г. Астрахань, Российская Федерация, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры нервных болезней с курсом медицинской генетики, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Kalaev Aleksander Aleksandrovich, Astrakhan State Medical Academy, Astrakhan, Russian Federation, Candidate of Medicine, Assistant of Nervous Diseases Department with Medical Genetics Course, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Жабина Анастасия Владимировна, Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, г. Тамбов, Российская Федерация, студентка медицинского института, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Zhabina Anastasia Vladimirovna, Tambov State University named after G.R. Derzhavin, Tambov, Russian Federation, Student of Medical Institute, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Серебряков Андрей Александрович, Тамбовский государственный технический университет, г. Тамбов, Российская Федерация, студент энергетического факультета, кафедра «Биомедицинская техника», e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Serebryakov Andrey Aleksandrovich, Tambov State Technical University, Tambov, Russian Federation, Student of Energetic Faculty, "Bio-medical Technique" Department, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Болдырев Дмитрий Валерьевич, Тамбовский государственный технический университет, г. Тамбов, Российская Федерация, студент энергетического факультета, кафедра «Биомедицинская техника», e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Boldyrev Dmitriy Valeryevich, Tambov State Technical University, Tambov, Russian Federation, Student of Energetic Faculty, "Bio-medical Technique" Department, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Кондратьев Александр Сергеевич, Тамбовский государственный технический университет, г. Тамбов, Российская Федерация, студент энергетического факультета, кафедра «Биомедицинская техника», e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru

Kondratyev Aleksander Sergeevich, Tambov State Technical University, Tambov, Russian Federation, Student of Energetic Faculty, "Bio-medical Technique" Department, e-mail: alexey.gorbunov@mail.ru