

Возрастные изменения и риск хромосомных аномалий в ооцитах человека (обзор литературы)

© К.м.н. А.А. СМОРНОВА^{1,2}, к.м.н. Н.А. ЗЫРЯЕВА¹, к.м.н. М.Б. АНШИНА¹

¹ООО «Центр репродукции и генетики», Москва, Россия;

²ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

В обзоре представлены данные молекулярной биологии об особенностях мейоза у женщин, обуславливающих повышение частоты анеуплоидии в ооцитах с возрастом. Установлено, что анеуплоидными являются около 30% всех зрелых ооцитов и только 1—2% сперматозоидов. Согласно результатам исследований, частота анеуплоидии увеличивается пропорционально возрасту женщины и достигает 82% у женщин старше 42 лет. Основной особенностью оогенеза является длительный период времени между остановкой мейоза во внутриутробном периоде и возобновлением его в каждом цикле, начиная с пубертатного периода и до менопаузы. Рассмотрена ведущая причина возрастной анеуплоидии в ооцитах — ослабление сцепления сестринских хроматид. Показаны независимые от возраста причины анеуплоидии в ооцитах: ошибки контрольных точек формирования веретена в ооцитах, нестабильность веретена деления, сниженная частота и проблемные позиции гомологичной рекомбинации.

Ключевые слова: возраст, анеуплоидия, ооциты, мейоз, когезины, шугошин, сестринские хроматиды.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А.А. Смирнова — к.м.н., руководитель отделения ВРТ ООО «Центр репродукции и генетики», доцент кафедры женских болезней и репродуктивного здоровья Института усовершенствования врачей Научного медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова (зав. кафедрой — проф. Е.А. Кира), Москва, 105203; Центр репродукции и генетики «ФертиМед», ул. 3-я Парковая, 8/19, Москва, Россия, 105043; <https://orcid.org/0000-0003-3035-5921>; тел.: +7(495)504-1526; +7(916)16520-64; e-mail: a-smirnova@mail.ru;

Н.А. Зыряева — к.м.н., Центр репродукции и генетики «ФертиМед», ул. 3-я Парковая, 8/19, Москва, Россия, 105043; тел.: +7(495)504-1526; +7(916)406-5827; e-mail: natalia_zy@mail.ru

М.Б. Аншина — к.м.н., генеральный директор ООО «Центр репродукции и генетики», ул. 3-я Парковая, 8/19, Москва, Россия, 105043; <https://orcid.org/0000-0002-8446-5387>; тел.: +7(495)504-1526; +7(916)531-7734; e-mail: docansh@gmail.com;

КАК ЦИТИРОВАТЬ

Смирнова А.А., Зыряева Н.А., Аншина М.Б. Возрастные изменения и риск хромосомных аномалий в ооцитах человека (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2019;25(2):16-26. <https://doi.org/10.17116/repro201902116>

Age-related changes and risk of chromosomal incompetence in human oocytes (a review)

A.A. SMIRNOVA^{1,2}, N.A. ZYRIAIEVA¹, M.B. ANSHINA¹

¹IVF & Reproductive Genetics Center, Moscow, Russia, 105043;

²Department of women's diseases and reproductive health of Institute of advanced medical training at Federal state budgetary institution «National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

ABSTRACT

We review molecular biology findings about some special aspects of meiosis in the female germline, which cause increased oocyte aneuploidy incidence. It was defined, that around 30% of fertilized oocytes are aneuploid, compared to only 1—2% of spermatozoa. According with studies, oocytes aneuploidy incidence increase with women age up to 82% in women after age of 42 years. The main factor is the prolonged period between dictyate arrest in fetal oocyte development till meiotic resumption in each cycle from puberty to menopause. We describe the main cause of age-related oocyte aneuploidy — the weakness of sister chromatid cohesions. We discuss age-independent causes of oocytes aneuploidy, such as errors of spindle assembly check points, spindle instability, decreased incidence and problematic positions of homologous recombination.

Keywords: age, aneuploidy, oocytes, meiosis, cohesins, shugoshin, sister chromatids.

Автор, ответственный за переписку: А.А. Смирнова — к.м.н., руководитель отделения ВРТ ООО «Центр репродукции и генетики», доцент кафедры женских болезней и репродуктивного здоровья Института усовершенствования врачей Научного медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова, Москва, 105203; Центр репродукции и генетики «ФертиМед», ул. 3-я Парковая, 8/19, Москва, Россия, 105043; e-mail: a-smirnova@mail.ru

Corresponding author: A.A. Smirnova — MD, PhD, head of IVF department at IVF & Reproductive Genetics Center, associate professor at Department of women's diseases and reproductive health of Institute of advanced medical training at Federal state budgetary institution «National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia; e-mail: a-smirnova@mail.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A.A. Smirnova — MD, PhD, head of IVF department at IVF & Reproductive Genetics Center, associate professor at Department of women's diseases and reproductive health of Institute of advanced medical training at Federal state budgetary institution «National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3035-5921>; Scopus Author ID: 56586609300; e-mail: a-smirnova@mail.ru;

N.A. Zyryaeva — MD, PhD, obstetrician-gynecologist at IVF & Reproductive Genetics Center, Moscow, Russia; e-mail: natalia_zy@mail.ru;

M.B. Anshina — MD, PhD, general director of IVF & Reproductive Genetics Center, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8446-5387>; Scopus Author ID: 6602411324; e-mail: docansh@gmail.com

TO CITE THIS ARTICLE

Smirnova AA, Syryaeva NA, Anshina MB. Age-related changes and risk of chromosomal incompetence in human oocytes (a review). *Problemy Reproduktsii (Russia Journal of Human Reproduction)*. 2019;25(2):16-26. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/repro20192502116>

В последние десятилетия наблюдается стойкая тенденция к повышению возраста деторождения. Если 20 лет назад возраст женщины при рождении первого ребенка составлял около 25 лет, то сейчас у многих женщин первые роды происходят между 30 и 35 годами [1]. Например, в 2013 г. в США 43% живорождений пришлось на возраст женщины 30 лет и старше [2]. При этом, по меркам классического акушерства, женщину, рожавшую первого ребенка после 28 лет, называли «старородящей» или «пожилой первородящей» и относили ее к группе повышенного риска развития осложнений беременности и родов.

В настоящее время многие женщины рожают детей в возрасте 40 лет и старше. Существует отчетливая тенденция к снижению частоты наступления беременности, повышению риска ее прерывания и увеличению вероятности рождения детей с хромосомной патологией у женщин старшего репродуктивного возраста по сравнению с молодыми [3]. В связи с этим возникает вопрос о том, как именно возраст женщины влияет на качество половых клеток и здоровье будущего ребенка.

Одной из ведущих причин спонтанного прерывания беременности и врожденных пороков развития плода являются генетические нарушения, возникающие вследствие ошибок расхождения хромосом во время мейотического деления ооцитов [4]. Ооциты более подвержены ошибкам, чем сперматозоиды и делящиеся путем митоза соматические клетки [5]. Большинство анеуплоидий, обнаруживаемых у эмбрионов человека, происходят из яйцеклетки, а не из сперматозоида [4, 6–10]. Известно, что 88% трисомий по 21-й хромосоме имеют материнское происхождение, 8% — отцовское и 4% возникают вследствие ошибок митоза на ранних стадиях развития эмбриона [11]. Установлено, что анеуплоидными являются около 30% ооцитов и только 1–2% сперматозоидов [11], вероятно, из-за значительных различий в процессе мейоза у мужчин и женщин. У мужчин сперматогенез начинается после пубертатного периода и продолжается в течение всей жизни. Напротив, у женщин мейоз

иницируется во время внутриутробного развития плода, останавливается на стадии профазы I перед рождением девочки, возобновляется только в процессе овуляции во взрослом возрасте и происходит циклически вплоть до менопаузы [4].

Ограниченный резерв ооцитов формируется еще до рождения девочки, при этом их качество с возрастом снижается, что приводит к снижению фертильности и прогрессивному увеличению числа яйцеклеток с аномальным количеством хромосом [5].

Анеуплоидия — явление, при котором клетки организма содержат число хромосом, не кратное гаплоидному (одинарному). Анеуплоидии делят на трисомии ($2n+1$), тетрасомии ($2n+2$), двойные трисомии ($2n+1+1$), моносомии ($2n-1$) и нуллисомии ($2n-2$) [12].

Аутосомные моносомии обычно погибают до клинически установленной беременности, трисомии обуславливают тяжелые аномалии развития плода и в 30% случаев приводят к самопроизвольному патологическому прерыванию беременности. Некоторые аутосомные трисомии и анеуплоидии по половым хромосомам совместимы с жизнью, самая частая из них — трисомия по 21-й хромосоме (синдром Дауна) [11, 13]. Частота трисомии эмбриона при клинически установленной беременности остается низкой у женщин в возрасте 20 лет (около 2–3%) и увеличивается примерно до 35% в возрасте 40 лет [14].

Внутриутробное развитие ооцитов

Внутриутробно до 6–7-й недели эмбрионального развития в первичную гонаду из области основания желточного мешка мигрируют половые клетки гонocytes. С окончанием этого периода заканчивается индифферентная стадия развития гонады. Половая дифференцировка индуцируется половыми хромосомами. Формирование гонады женского типа начинается с 8–10-й недели внутриутробного развития. Первичные половые клетки превращаются в оогонии, которые затем размножаются путем митотического деления (рис. 1). С началом мейоза оогонии получа-



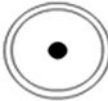

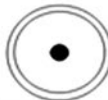
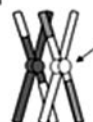
Стадии жизненного цикла	Гистология фолликулов	Тип половых клеток	Тип деления клеток Хромосомы	n* c*
Внутри-утробное развитие	8-10 недель Фолликулов нет	Оогоний 	Митоз	46 2n2c
	20 недель Примордиальные фолликулы 	Ооцит первого порядка 	Мейоз I Профаза I (5 стадий) Пара гомологичных хромосом Бивалент Гомологичная рекомбинация хромосом Остановка развития в профазе I мейоза	46 2n4c
После рождения	Первичные фолликулы 	Ооцит первого порядка 	Профаза I Бивалент 	46 2n4c
Период полового созревания От пубертата до менопаузы До овуляции	Вторичный фолликул полость	Сборка веретена деления Миграция веретена деления Выброс ПТ1 Ооцит второго порядка ПТ1 Ооцит второго порядка	Снятие первого блока мейоза Метафаза I Биваленты выстраиваются в одну линию Анафаза I Гомологичные хромосомы расходятся в ПТ1 Мейоз II Метафаза II Остановка развития	46 2n4c 23 1n2c
	Третичный фолликул 	Выброс ПТ1 Ооцит второго порядка ПТ1 	Мейоз II Метафаза II Остановка развития Сестринские хроматиды выстраиваются в одну линию	23 1n2c
Овуляция	Зрелый фолликул 	Оплодотворение Выброс ПТ2 	Снятие второго блока мейоза Анафаза II Сестринские хроматиды расходятся в ПТ2	23 1n1c
Беременность	Желтое тело в яичнике 	Зигота направляется в матку ПТ2 Формирование пронуклеусов 	Эмбриогенез Митоз Материнская хроматида Отцовская хроматида Пара гомологичных хромосом	46 2n2c

Рис. 1. Развитие ооцита [5].

n* — количество гаплоидных наборов хромосом; c* — количество ДНК; ПТ1 — первое полярное тело; ПТ2 — второе полярное тело.

Fig. 1. Oocyte development (adopted from A. Webster, M. Schuh).

ют название ооцитов (ооцит 1-го порядка). Оогонии содержат диплоидный хромосомный набор (46XX), в процессе мейоза происходит его редукция до гаплоидного (23X). Вокруг ооцитов из клеток мезенхимы образуются первичные гранулезные клетки. На 20-й неделе развития у плода начинается процесс образования примордиальных фолликулов, которые содержат ооцит, плотно окруженный клетками эпителия (см. рис. 1). К рождению девочки число примордиальных фолликулов составляет около одного миллиона [15]. Мейоз начинается со стадии репликации (удвоения) ДНК, которое происходит в интерфазу (периоды G1 — пресинтетический, S — синтетический, G2 — постсинтетический) [16], после чего следуют 2 цикла деления клеток — 1-е и 2-е деления мейоза (мейоз I и мейоз II), в процессе которых происходит редукция числа хромосом и образуются гаплоидные гаметы.

Мейотическое деление состоит из следующих фаз: профаза I (включает 5 стадий: лептотена, зиготена, пахитена, диплотена, диакинез), метафаза I, анафаза I, телофаза I, затем профаза II, метафаза II, анафаза II, телофаза II [16]. Лептотена (стадия тонких нитей) — начало конденсации хромосом. Зиготена (стадия сливающихся нитей) — сближение и начало конъюгации гомологичных хромосом; к концу ее все гомологи объ-

единяются в биваленты (рис. 2). В пахитене (стадия толстых нитей) происходит кроссинговер. Диплотена (стадия двойных нитей) начинается взаимным отталкиванием гомологов, которые остаются связанными в области хиазм; хромосомы деконденсируются и приобретают вид «ламповых щеток». Это наиболее длительный период профазы I. У человека хромосомы типа «ламповых щеток» существуют 12—50 лет, т.е. остаются в таком состоянии до полового созревания женского организма и далее до менопаузы [12]. В связи с этим выделяют диктиотену — форму диплотены профазы I деления мейоза, характеризующуюся существенно большей продолжительностью в связи с прохождением этапа вителлогенеза (процесса синтеза и накопления питательных веществ в ооцитах на этапе их быстрого роста). На этой стадии происходит остановка развития в профазе I мейоза (см. рис. 1) — 1-й блок мейоза на стадии диктиотены.

В профазе I происходит конъюгация гомологичных хромосом (синапсис) и рекомбинация (обмен ДНК между гомологичными хромосомами) [4]. Этот процесс называют гомологичной рекомбинацией (см. рис. 1) [17]. Связи между гомологичными хромосомами устанавливаются на ранних стадиях развития ооцита во время роста плода женского пола [17]. Ма-

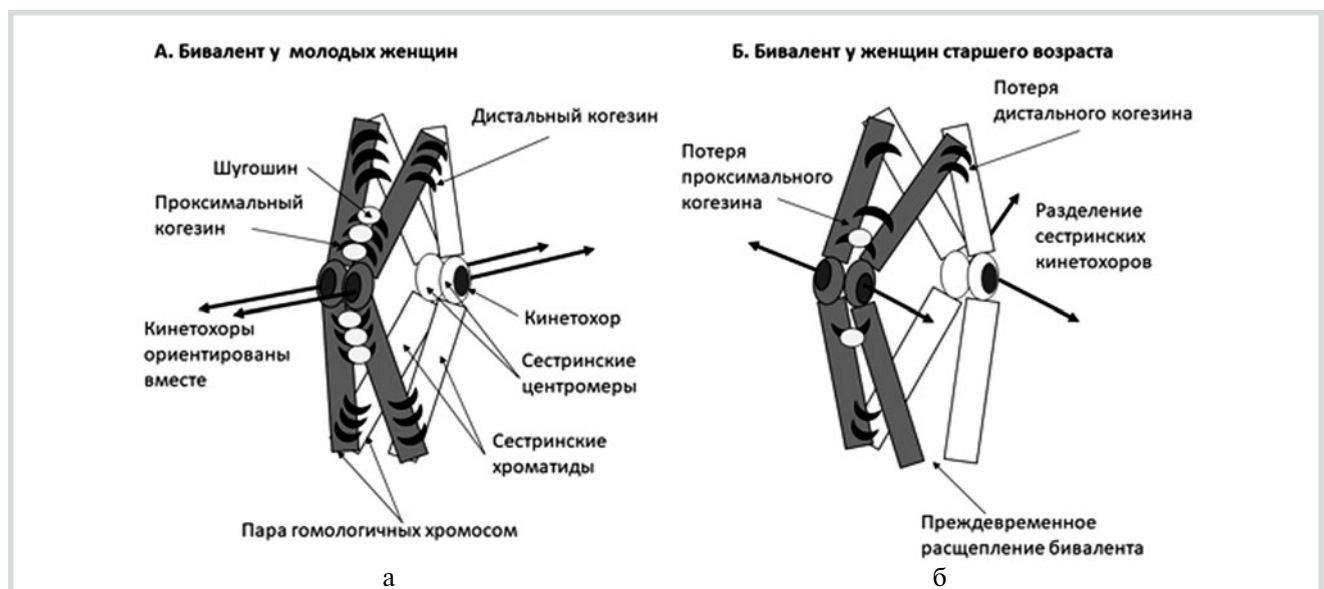


Рис. 2. Бивалент у женщин молодого и старшего возраста [5].

а — бивалент в ооцитах у молодых женщин. Достаточное количество когезина и шугошина. Гомологичные хромосомы хорошо сцеплены между собой с помощью дистального когезина, сестринские хроматиды также хорошо сцеплены между собой с помощью проксимального когезина. Шугошин защищает проксимальный когезин от гидролиза сепаразой. Кинетохоры сестринских хроматид ориентированы вместе; б — бивалент в ооцитах у женщин старшего возраста. Потеря проксимального когезина и шугошина ведет к разделению сестринских кинетохоров, что может привести к преждевременному разделению сестринских хроматид. Потеря дистального когезина приводит к преждевременному расщеплению бивалента (на униваленты).

Fig. 2. Yang bivalent (a) and agen bivalent (b) (adopted from A. Webster, M. Schuh).

теринская и отцовская хромосомы соединяются с помощью белкового синаптонемного комплекса, в результате чего происходит кроссинговер — процесс обмена гомологичными участками ДНК между гомологичными хромосомами [5, 18]. После завершения кроссинговера комплекс исчезает, гомологичные хромосомы прочно связываются перекрещенными молекулами ДНК (хиазмами). Синаптонемный комплекс состоит из центрального элемента и двух латеральных элементов. Основа протяженных латеральных элементов синаптонемного комплекса — структура из 4 белков когезинов (от англ. cohesion — сцепление) [18].

Накануне мейоза в хромосомах появляется специфический белок когезин REC8, к нему присоединяются 3 других белка когезина. Этот когезиновый комплекс располагается внутри хромосомы между двумя сестринскими хроматидами, удерживая их вместе. С комплексом когезинов связываются мейоз-специфические белки, которые становятся главными белками хромосомных осей и превращают эти оси в латеральные элементы синаптонемного комплекса [18—20].

Когезин склеивает сестринские хроматиды между собой в области центромер (кинетохоров) и в области мест кроссинговера (проксимальный когезин) (см. рис. 2) [5, 18—20]. Когезин дистальнее мест кроссинговера (дистальный когезин) связывает гомологичные хромосомы [5, 19, 20]. В районе кинетохора когезины защищены белком шугошином (от японского слова — защита), который препятствует гидролизу когезина REC8 сепаразой [5, 18, 21, 22]. Протеины шугошина локализованы в обеих перичентромерных областях сестринских хроматид [5, 23].

Когезины — белки, которые играют ключевую роль в процессе сцепления и расхождения хромосом во время деления клетки, регулируют процесс разделения сестринских хроматид. Центромера — участок хромосомы, связывающий сестринские хроматиды. Кинетохор — белковая структура на хромосоме, к которой крепятся волокна веретена деления, формируется в области центромеры (см. рис. 2). Кинетохоры сестринских хроматид должны функционировать как единый кинетохор, чтобы обе сестринские хроматиды гомологичной хромосомы отошли к одному полюсу в процессе мейоза I.

Таким образом, в профазе I образуется структура из двух связанных гомологичных хромосом, называемая бивалентом (см. рис. 1, 2). Затем ооцит вступает в состояние клеточного покоя, происходит остановка развития — 1-й блок мейоза на стадии диктиотены, которая у человека может длиться десятки лет [5].

Развитие ооцитов от пубертатного периода до менопаузы

В пубертатном периоде после установления менструального цикла под действием лютеинизирующего гормона (ЛГ) возобновляется мейоз, и ооцит выходит

из стадии диктиотены. Диакнез (стадия обособления двойных нитей) характеризуется уменьшением числа хиазм. Далее фрагментируется ядерная оболочка, формируется веретено деления [9]. На стадии метафазы I биваленты выстраиваются по экватору веретена, образуя метафазную пластинку. В анафазе I начинается движение гомологичных хромосом к противоположным полюсам клетки. В телофазе I образуется ооцит второго порядка и первое полярное тело (ПТ1). В профазе II в ооците второго порядка формируется веретено деления. На стадии метафазы II связанные между собой сестринские хроматиды выстраиваются в метафазную пластинку, наступает 2-й блок мейоза (см. рис. 1).

Ооцит 2-го порядка останавливается на стадии метафазы II, в таком состоянии он во время овуляции выходит из зрелого фолликула в брюшную полость, затем транспортируется в маточную трубу, где происходит встреча со сперматозоидом [5]. Оплодотворение снимает 2-й блок мейоза; 2-е мейотическое деление завершается после проникновения сперматозоида в ооцит [24].

В процессе анафазы II и телофазы II один набор сестринских хроматид остается в яйцеклетке, другой набор уходит во второе полярное тело (ПТ2). ДНК яйцеклетки и сперматозоида формируется в женский и мужской пронуклеусы, которые затем сливаются друг с другом перед первым митотическим делением эмбриона (см. рис. 1) [24, 25]. Данный процесс происходит регулярно в каждом овуляторном менструальном цикле (до остановки развития ооцита на стадии метафазы II, а завершается лишь в случае оплодотворения).

Во время 1-го деления мейоза один набор гомологичных хромосом остается в ооците, а второй уходит в ПТ1. При этом сестринские хроматиды остаются связанными когезином проксимально у центромеры, а когезин защищен протеинами шугошина от воздействия сепаразы. Во 2-м делении мейоза протеины шугошина больше не защищают когезин от воздействия сепаразы, которая гидролизует когезин REC8, поэтому сестринские хроматиды разделяются и расходятся в разные стороны [23]. Таким образом, в процессе 1-го деления мейоза расходятся гомологичные хромосомы, а во время 2-го деления мейоза — сестринские хроматиды.

Причины нарушения расхождения хромосом

В качестве причин нарушений расхождения хромосом в мейозе рассматривают 2 основных механизма: нерасхождение и преждевременное разделение сестринских хроматид (рис. 3) [22, 26—30].

При нерасхождении не происходит расхождения гомологичных хромосом или сестринских хроматид в соответствующих фазах мейоза. При преждевременном разделении пары сестринских хроматид отделяются одна от другой, чтобы независимо друг от друга

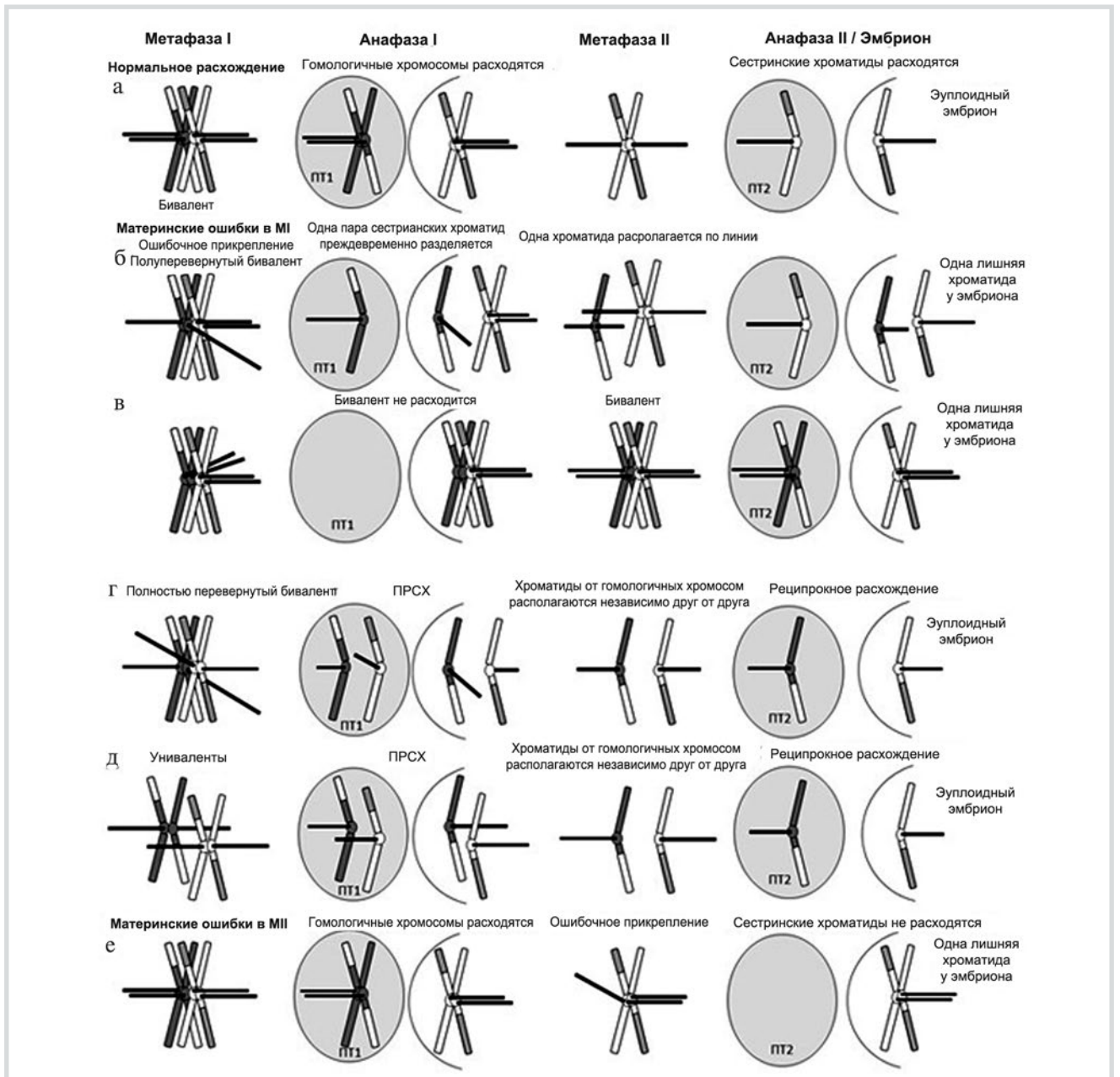


Рис. 3. Ошибки расхождения хромосом [4, 5].

а — нормальное расхождение хромосом (б, в, г, д — материнские ошибки в первом делении мейоза; е — материнские ошибки во втором делении мейоза); б — ошибочное прикрепление кинетохоров сестринских хроматид к микротрубочкам веретена деления. Полуинвертированный бивалент: одна пара сестринских хроматид прикрепляется к микротрубочкам противоположных полюсов веретена; в — ошибочное прикрепление кинетохоров сестринских хроматид к микротрубочкам веретена деления. Обе пары сестринских хроматид прикрепляются к микротрубочкам одного полюса веретена, что обуславливает нерасхождение гомологичных хромосом в первом делении мейоза; г — полностью инвертированный бивалент: обе пары сестринских хроматид прикрепляются к микротрубочкам противоположных полюсов веретена. В процессе второго деления мейоза возможно реципрокное расхождение; д — бивалент распадается на унivalенты, которые расходятся независимо друг от друга. Возможно реципрокное расхождение; е — нормальное расхождение в первом делении мейоза. Ошибочное прикрепление сестринских хроматид к микротрубочкам одного полюса веретена во втором делении мейоза, в результате чего сестринские хроматиды не расходятся.

ПРСХ — преждевременное разделение сестринских хроматид; ПТ1 — первое полярное тело; ПТ2 — второе полярное тело.

Fig. 3. Chromosome segregation errors (adopted from A. Webster, M. Schuh; T. Chiang et al.)

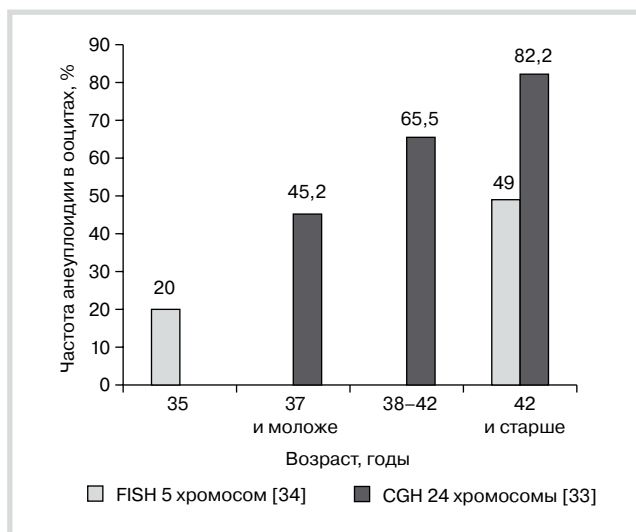


Рис. 4. Частота анеуплоидии в ооцитах в зависимости от возраста женщины (по данным А. Kuliev и соавт., и E. Fraguoli и соавт.).

Fig. 4. Aneuploidy rate in woman oocytes at different age (from A. Kuliev, et al and E. Fraguoli, et al).

случайным образом, часто неправильно, разойтись во время анафазы 1-го мейотического деления. Результаты недавних цитогенетических исследований полярных тел позволяют предположить, что ошибки, обусловленные преждевременным разделением сестринских хроматид, встречаются чаще, чем обусловленные их нерасхождением [31–33].

Ошибки расхождения происходят с одинаковой частотой в 1-м и 2-м делениях мейоза, хотя некоторые исследователи сообщают о более высокой частоте ошибок в мейозе II [31, 33, 34]. Это можно объяснить тем, что часто ошибки в мейозе I проявляются только в мейозе II (см. рис. 3). Например, преждевременно разделенные сестринские хроматиды могут разойтись правильно в мейозе I, но дать ошибку позже, в мейозе II. Интересно, что ошибки, обусловленные преждевременным разделением сестринских хроматид, в мейозе I могут быть скорректированы «сбалансированной ошибкой» в мейозе II: если в ПТ1 и ПТ2 есть реципрокные ошибки, то полученный эмбрион будет содержать правильный набор хромосом [31].

Феномен «реципрокного расхождения» — формирование нормальных гаплоидных ооцитов после преждевременного разделения сестринских хроматид в мейозе I и коррекции путем расхождения гомологов в мейозе II (см. рис. 3). Реципрокное расхождение происходит, когда сестринские хроматиды, а не гомологичные хромосомы, расходятся в мейозе I. Они остаются несвязанными после мейоза I, что может вызвать проблемы в метафазе II. Реципрокное расхождение чаще встречается у женщин старшего возраста [35].

По мнению Т. Chiang и соавт., большинство трисомий материнского происхождения возникают

вследствие ошибок в мейозе I [4]. На материнское происхождение хромосомных аномалий в процессе мейоза I также указывают Т. Hassold и соавт. [36, 37].

Анализ полярных тел 20 986 ооцитов методом FISH на 5 хромосом (13, 16, 18, 21, 22), проведенный А. Kuliev и соавт. [34], показал, что анеуплоидии с равной частотой возникают в процессе мейоза I и мейоза II. Изолированные нарушения в процессе мейоза I выявлены в 30,4%, в процессе мейоза II — в 39,8%, в то время как у 29,8% ооцитов аномальный хромосомный набор возник вследствие последовательных ошибок в мейозе I и в мейозе II. Это означает, что почти треть ошибок в мейозе II связана с предшествующими ошибками в мейозе I. Результаты показали, что частота анеуплоидии по 5 исследованным хромосомам увеличивается пропорционально возрасту женщины и составляет 20% в 35 лет и более 40% в 40 лет [34]. Анеуплоидии, происходящие вследствие последовательных ошибок в мейозе I и мейозе II, зависят от возраста.

Частота анеуплоидии, по результатам исследования ПТ1 и ПТ2 (соответственно, после мейоза I и II) методом CGH, составила 45,2% у женщин в возрасте 37 лет и младше, 65,5% у женщин 38–41 года и 82,2% у женщин 42 лет и старше [33]. Следовательно, при исследовании 24 хромосом частота анеуплоидии в ооцитах значительно выше, чем при исследовании 5 хромосом (рис. 4).

L. Gianaroli и соавт. исследовали ПТ1 ооцитов методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) на 13, 15, 16, 18, 21 и 22-й хромосоме и выявили, что доля ооцитов с ошибками в мейозе I составила 39% у женщин моложе 38 лет и 58% у женщин 44 лет [38]. Таким образом, наличие длительного временного интервала между остановкой мейоза у плода и его возобновлением в период овуляции у взрослой женщины создает предпосылки для повышения частоты анеуплоидии в ооцитах у женщин старшего возраста [4].

Следует отметить, что исследование бластомеров эмбрионов на стадии дробления выявило анеуплоидии в 67,2% случаев у женщин до 38 лет и в 86,3% случаев у женщин 38 лет и старше [39, 40], при этом у женщин старше 45 лет эуплоидные эмбрионы вовсе не обнаружены [41].

Зависимые от возраста причины анеуплоидии в ооцитах

Для точного расхождения хромосом важна их правильная интеграция. С возрастом в ооцитах женщин чаще возникают следующие структурные дефекты [42, 43]:

1) сестринские кинетохоры отделяются на большие расстояния, что способствует неправильному расположению бивалентов в мейотическом веретене в мейозе I [44];

2) биваленты со сниженным дистальным сцеплением часто преждевременно распадаются на отдельные хромосомы, называемые униваленты [42].

Для обоих дефектов возможно реципрокное расхождение [5].

Частота образования унивалентов увеличивается с возрастом: у женщин 30—35 лет униваленты определяются в 10% ооцитов, а у женщин старше 35 лет — в 40% [45]. При реципрокном расхождении сестринские хроматиды уже разделены и не могут правильно расположиться в веретене метафазы II (см. рис. 3) [5]. Предполагают, что ухудшение сцепления хроматид является ведущей причиной возрастной анеуплоидии в ооцитах [4, 42]. Сцепление сестринских хроматид в ооцитах человека ослабевает с возрастом, что может привести к неправильному расположению бивалентов во время мейоза I (см. рис. 3) [44].

В норме дистальный когезин связывает вместе гомологичные хромосомы, проксимальный когезин связывает кинетохоры сестринских хроматид, а протеины шугошина защищают проксимальный когезин от удаления в анафазу I. В ооцитах женщин старшего возраста дистальный когезин может быть потерян, и гомологичные хромосомы разделены (см. рис. 2). Проксимальный когезин ослабевает, и сестринские кинетохоры отдаляются на большее расстояние [44]. Защитное влияние шугошина на когезин снижается в перичентромерных областях. В полуперевернутых бивалентах одна пара сестринских хроматид прикрепляется к микротрубочкам противоположных полюсов веретена, что приводит к несбалансированному расхождению. В полностью перевернутых бивалентах обе пары сестринских хроматид прикрепляются к микротрубочкам противоположных полюсов веретена, и это может привести к реципрокному расхождению (см. рис. 3). Также возможно нарушение соединения кинетохоров с микротрубочками [46]. Перевернутые биваленты чаще обнаруживают в ооцитах женщин старшего возраста, и это коррелирует с увеличенным расстоянием между сестринскими кинетохорами [42].

Поскольку сцепление хромосом должно сохраняться в течение довольно длительного периода времени (около 50 лет), оно может быть подвержено возрастным изменениям, приводящим к формированию анеуплоидии. В норме сцепление хромосом должно прекращаться только с началом анафазы. Дефект сцепления дистальнее мест кроссинговера может привести к смещению местоположения хиазмы (сдвиг хиазмы) или к преждевременному расхождению бивалентов в мейозе I. Уменьшение сцепления центромер может привести к преждевременному разделению сестринских хроматид в мейозе II [4]. Преобладание преждевременно разделившихся сестринских хроматид в ооцитах человека также говорит о том, что у женщин старшего возраста ослабевает или теряется их сцепление [4].

Исследования на трансгенных мышах показали, что протеины сцепления (когезины) устанавливаются на хромосомы внутриутробно в фазу S (синтетический

период интерфазы) и остаются функциональными, пока возобновляется мейоз. Выявлено, что когезины формируются в избытке, с возрастом их количество снижается, и при достижении некоторого порогового уровня начинает расти частота анеуплоидий [4, 44, 47]. Иммунофлюоресцентное окрашивание ооцитов на срезах яичников показало, что уровень мейоз-специфических когезинов REC8 и SMC1B в диктиотене снижен у женщин старшего возраста [11, 48], при этом достоверно увеличивается расстояние между кинетохорами, чаще происходят ошибки расхождения хромосом [42, 44]. Установлена отрицательная линейная корреляция между уровнем когезинов, потерей сцепления и возрастом женщины [48]. Частота ошибок расхождения хромосом возрастает экспоненциально у женщин после 35 лет [14]. Причины падения уровня когезинов на сегодняшний день точно не установлены [11].

Независимые от возраста причины анеуплоидии в ооцитах

Хромосомные нарушения обнаруживают в 3—61% ооцитов у женщин даже моложе 30 лет [49, 50]. Предполагают следующие независимые от возраста причины анеуплоидии:

1. Ошибки контрольных точек формирования веретена (ТФВ) в ооцитах. Функция ТФВ в мейозе I — задерживать анафазу, пока все кинетохоры не прикрепятся к микротрубочкам веретена [51]. Однако ооциты вступают в анафазу, несмотря на ошибки расположения хромосом [45]. Установлено, что ТФВ в ооцитах молодых мышей и мышей старшего возраста функционируют одинаково [4].

2. Наличие нескольких полюсов и нестабильность веретена деления затрудняют прикрепление хромосом к микротрубочкам и обуславливают неправильное расхождение сестринских хроматид или гомологичных хромосом [52].

3. Гомологичная рекомбинация влияет на сцепление хромосом в биваленте [11, 53]. У женщин отмечено больше локусов кроссинговера в хромосомах, чем у мужчин. Более длинные хромосомы формируют больше кроссинговеров, чем короткие. Дистальные и проксимальные кроссинговеры могут влиять на силу сцепления гомологичных хромосом и сестринских хроматид [35, 53, 54]. Синапсис и рекомбинация — две первые критические ступени мейоза — происходят в профазе I во время внутриутробного развития плода и поэтому не зависят от возраста. Возможное объяснение связи между ошибками рекомбинации и зависимой от возраста анеуплоидии может заключаться в том, что сниженная частота рекомбинаций или проблемные позиции рекомбинаций (слишком близко к теломерам или слишком близко к центромере) делают конкретные хромосомы более уязвимыми для нарушения других процессов годы спустя [4].

Поскольку ооциты млекопитающих проходят профазу мейоза на стадии внутриутробного развития, важно, чтобы сформировался по крайней мере один кроссинговер для рекомбинации между каждой парой гомологичных хромосом с целью обеспечения их сбалансированного расхождения в мейозе I [11]. При синдроме Дауна в 30% случаев материнского происхождения ошибка расхождения гомологичных хромосом возникает вследствие отсутствия кроссинговера [11]. В некоторых случаях наблюдается низкая частота рекомбинации во всем геноме независимо от возраста матери. Например, у сиблингов детей с синдромом Дауна, возникшим в результате отсутствия кроссинговера в 21 паре хромосом, обнаружена низкая частота рекомбинаций во всем геноме независимо от возраста матери на момент их рождения [11].

Регуляция частоты кроссинговера, возможно, менее строго контролируется у женщин, что потенциально может влиять на более высокую частоту анеуплоидий материнского происхождения [11]. Одним из материнских факторов могут быть варианты гена *RNF212*, обуславливающие низкую частоту кроссинговеров в ооцитах [11]. Для начала мейотической рекомбинации создаются разрывы двойной нити ДНК, затем набираются протеины для репарации и формируются локусы рекомбинации. Мутации или полиморфизм генов этих протеинов могут вызывать нарушение синапсов хромосом. Гены *MSH4*, *MSH5*, *TEX11*, *HEI10*, *RNF212* и *TRIP13* являются кандидатами в отношении регуляции материнской рекомбинации у человека и потенциальными факторами риска повышенной частоты анеуплоидии в ооцитах [11]. Позиции кроссинговера также регулируются на мно-

гих стадиях мейотической рекомбинации. На частоту и позиции кроссинговера влияют частота и позиции формирования разрыва двойной нити ДНК. Формирование кроссинговера в определенных локусах делает более вероятным нерасхождение хромосом [11].

Таким образом, можно предположить существование генетической предрасположенности к нарушениям процессов мейотического деления ооцитов, проявляющимся независимо от возраста женщины.

ВЫВОД

1. Наличие длительного временного интервала между остановкой мейоза у плода женского пола и его возобновлением в период овуляции у взрослой женщины создает предпосылки для повышения частоты анеуплоидии в ооцитах женщин старшего возраста.

2. Ведущей причиной возрастной анеуплоидии в ооцитах считается ухудшение сцепления хроматид.

3. Независимые от возраста причины анеуплоидий в ооцитах включают ошибки контрольных точек формирования веретена в ооцитах, нестабильность веретена деления, снижение частоты кроссинговера и проблемные позиции гомологичной рекомбинации.

Участие авторов:

Концепция и дизайн — М.А., А.С., Н.З.

Написание текста — Н.З., А.С.

Редактирование — А.С., М.А.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Mathews TJ, Hamilton BE. Mean Age of Mothers is on the Rise: United States, 2000—2014. *NCHS Data Brief*. 2016;(232):1-8.
- Martin JA, Hamilton BE, Osterman MJ. Births in the United States, 2013. *NCHS Data Brief*. 2014;(175):1-8.
- Demko ZP, Simon AL, McCoy RC, Petrov DA, 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. *Fertility and Sterility*. 2016; 105(5):1307-1313. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.01.025>
- Chiang T, Schultz RM, Lampson MA. Meiotic origins of maternal age-related aneuploidy. *Biology of Reproduction*. 2012; 10;86(1):1-7. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.094367>
- Webster A, Schuh M. Mechanisms of Aneuploidy in Human Eggs. *Trends in Cell Biology*. 2017;27(1):55-68. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.09.002>
- May KM, Jacobs PA, Lee M, Ratcliffe S, Robinson A, Nielsen J, Hassold TJ. The arental origin of the extra X chromosome in 47, XXX females. *American Journal of Human Genetics*. 1990;46(4):754-761.
- Hassold T, Jacobs PA, Leppert M., Sheldon M. Cytogenetic and molecular studies of trisomy 13. *Journal of Medical Genetics*. 1987; 24(12):725-732.
- Hassold TJ, Pettay D, Freeman SB, Grantham M, Takaesu N. Molecular studies of non-disjunction in trisomy 16. *Journal of Medical Genetics*. 1991;28(3):159-162.
- Takaesu N, Jacobs PA, Cockwell A, Blackston RD, Freeman S, Nuccio J, Kurnit DM, Uchida I, Freeman V, Hassold T. Nondisjunction of chromosome 21. *American Journal of Medical Genetics Supplement*. 1990;7:175-181.
- Martin RH, Rademaker AW. The effect of age on the frequency of sperm chromosomal abnormalities in normal men. *American Journal of Human Genetics*. 1987;41(3):484-492.
- MacLennan M, Crichton JH, Playfoot CJ, Adams IR. Oocyte development, meiosis and aneuploidy. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2015;45:68-76. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.10.005>
- Биологический энциклопедический словарь*. Гл. ред. Гиляров МС. 2-е изд., испр. М.: Советская энциклопедия; 1989. *Biologicheskij ehnciklopedicheskij slovar'*. Gl. red. Gilyarov M.S. 2-e izd., ispr. M.: Sovetskaya ehnciklopediya; 1989. (In Russ.).
- Liao GJ, Gronowski AM, Zhao Z. Non-invasive prenatal testing using cell-free fetal DNA in maternal circulation. *Clinica Chimica Acta*. 2014;428:44-50.

14. Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nature Reviews Genetics*. 2001;2(4):280-291. <https://doi.org/10.1038/35066065>
15. Сметник ВП, Тумилович ЛГ. *Неоперативная гинекология*. Руководство для врачей. СПб.: СОТИС; 1995. Smetnik VP, Tumilovich LG. *Neoperativnaya ginecologiya*. Rukovodstvo dlya vrachei. SPb: SOTIS; 1995. (In Russ.).
16. Тейлор Д., Грин Н., Стаут Г., Сопер Р. *Биология*. Т.3. Пер. с англ. Под ред. Сопера Р. 9-е изд., испр. М.: Лаборатория знаний; 2018. Taylor DJ, Green N, Stout G, Soper R. *Biology*. T.3. Per. s angl. Pod red. Sopera R. 9-e izd., ispr. M.: Laboratoriya znaniy; 2018. (In Russ.).
17. Hunter N. Meiotic Recombination: The Essence of Heredity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2015;7(12):a016618. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016618>
18. Богданов Ю.Ф. Белковые механизмы мейоза. *Природа*. 2008; 3:3-9. Bogdanov YuF. Protein mechanisms of meiosis. *Priroda*. 2008;3:3-9. (In Russ.).
19. Michaelis C, Ciosk R., Nasmyth K. Cohesins: chromosomal proteins that prevent premature separation of sister chromatids. *Cell*. 1997;91(1):35-45.
20. Watanabe Y, Nurse P. Cohesin Rec8 is required for reductional chromosome segregation at meiosis. *Nature*. 1999;400(6743):461-464.
21. Buonomo SB, Clyne RK, Fuchs J, Loidl J, Uhlmann F, Nasmyth K. Disjunction of homologous chromosomes in meiosis I depends on proteolytic cleavage of the meiotic cohesin Rec8 by separin. *Cell*. 2000;103(3):387-398.
22. Greaney J, Wei Z, Homer H. Regulation of chromosome segregation in oocytes and the cellular basis for female meiotic errors. *Human Reproduction Update*. 2017;2:135-161. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx035>
23. Lee J, Kitajima TS, Tanno Y, Yoshida K, Morita T, Miyano T, Miyake M, Watanabe Y. Unified mode of centromeric protection by shugoshin in mammalian oocytes and somatic cells. *Nature Cell Biology*. 2008;10(1):42-52.
24. Clift D, Schuh M. Restarting life: fertilization and the transition from meiosis to mitosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2013;14(9):549-562. <https://doi.org/10.1038/nrm3643>
25. Courtois A, Schuh M, Ellenberg J, Hiragi T. The transition from meiotic to mitotic spindle assembly is gradual during early mammalian development. *Journal of Cell Biology*. 2012;198(3):357-370. <https://doi.org/10.1083/jcb.201202135>
26. Pellestor F, Andréo B, Arnal F, Humeau C, Demaille J. Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes. *Human Genetics*. 2003;112(2):195-203.
27. Wolstenholme J, Angell RR. Maternal age and trisomy — a unifying mechanism of formation. *Chromosoma*. 2000;109(7):435-438.
28. Angell R. First-meiotic-division nondisjunction in human oocytes. *American Journal of Human Genetics*. 1997;61(1):23-32.
29. Fragouli E, Wells D, Delhanty JD. Chromosome abnormalities in the human oocyte. *Cytogenetic and Genome Research*. 2011;133(2-4):107-118. <https://doi.org/10.1159/000323801>
30. Mihajlović AI, FitzHarris G. Segregating Chromosomes in the Mammalian Oocyte. *Current Biology*. 2018;28(16):895-907. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.06.057>
31. Handyside AH, Montag M, Magli MC, Repping S, Harper J, Schmutzler A, Vesela K, Gianaroli L, Geraedts J. Multiple meiotic errors caused by predivision of chromatids in women of advanced maternal age undergoing in vitro fertilisation. *European Journal of Human Genetics*. 2012;20(7):742-747. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.272>
32. Gabriel AS, Thornhill AR, Ottolini CS, Gordon A, Brown AP, Taylor J, Bennett K, Handyside A, Griffin DK. Array comparative genomic hybridization on first polar bodies suggests that non-disjunction is not the predominant mechanism leading to aneuploidy in humans. *Journal of Medical Genetics*. 2011;48(7):433-437. <https://doi.org/10.1136/jmg.2010.088070>
33. Fragouli E, Alfarawati S, Goodall NN, Sánchez-García JF, Colls P, Wells D. The cytogenetics of polar bodies: insights into female meiosis and the diagnosis of aneuploidy. *Molecular Human Reproduction*. 2011;17(5):286-295. <https://doi.org/10.1093/molehr/gar024>
34. Kuliev A, Zlatopolsky Z, Kirillova I, Spivakova J, Cieslak Janzen J. Meiosis errors in over 20,000 oocytes studied in the practice of pre-implantation aneuploidy testing. *Reproductive BioMedicine Online*. 2011;22(1):2-8. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.08.014>
35. Ottolini CS, Newnham L, Capalbo A, Natesan SA, Joshi HA, Cimadomo D, Griffin DK, Sage K, Summers MC, Thornhill AR, Housworth E, Herbert AD, Rienzi L, Ubaldi FM, Handyside AH, Hoffmann ER. Genome-wide maps of recombination and chromosome segregation in human oocytes and embryos show selection for maternal recombination rates. *Nature Genetics*. 2015;47(7):727-735. <https://doi.org/10.1038/ng.3306>
36. Hassold T, Merrill M, Adkins K, Freeman S, Sherman S. Recombination and maternal age-dependent nondisjunction: molecular studies of trisomy 16. *American Journal of Human Genetics*. 1995; 57(4):867-874.
37. Handyside A.H. Molecular origin of female meiotic aneuploidies. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012;1822(12):1913-1920. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.07.007>
38. Gianaroli L, Magli MC, Lappi M, Capoti A, Robles F, Ferraretti AP. Preconception diagnosis. *Reproductive BioMedicine Online*. 2009;18(3):S-5. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61206-0](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61206-0)
39. Garcia-Herrero S, Cervero A, Mateu E, Mir P, Póo ME, Rodrigo L, Vera M, Rubio C. Genetic Analysis of Human Preimplantation Embryos. *Current Topics in Developmental Biology*. 2016;120:421-447. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2016.04.009>
40. Rodrigo L, Mateu E, Mercader A, Cobo AC, Peinado V, Milán M, Al-Asmar N, Campos-Galindo I, García-Herrero S, Mir P, Simón C, Rubio C. New tools for embryo selection: comprehensive chromosome screening by array comparative genomic hybridization. *BioMed Research International*. 2014;2014:517125. <https://doi.org/10.1155/2014/517125>
41. Ubaldi FM, Cimadomo D, Capalbo A, Vaiarelli A, Buffo L, Trabucco E, Ferrero S, Albani E, Rienzi L, Levi Setti PE. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy testing in women older than 44 years: a multicenter experience. *Fertility and Sterility*. 2017;107(5): 1173-1180. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.03.007>
42. Duncan FE, Hornick JE, Lampson MA, Schultz RM, Shea LD, Woodruff TK. Chromosome cohesion decreases in human eggs with advanced maternal age. *Aging Cell*. 2012;11(6):1121-1124. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00866.x>
43. Sakakibara Y, Hashimoto S, Nakaoka Y, Kouznetsova A, Höög C, Kitajima TS. Bivalent separation into univalents precedes age-related meiosis I errors in oocytes. *Nature Communications*. 2015;6:7550. <https://doi.org/10.1038/ncomms8550>
44. Chiang T, Duncan FE, Schindler K, Schultz RM, Lampson MA. Evidence that weakened centromere cohesion is a leading cause of age-related aneuploidy in oocytes. *Current Biology*. 2010;20(17):1522-1528. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.06.069>
45. Kitajima TS. Mechanisms of kinetochore-microtubule attachment errors in mammalian oocytes. *Development Growth and Differentiation*. 2018;60(1):33-43. <https://doi.org/10.1111/dgd.12410>

46. Zielinska AP, Holubcova Z, Blayney M, Elder K, Schuh M. Sister kinetochore splitting and precocious disintegration of bivalents could explain the maternal age effect. *Elife*. 2015;4:e11389. <https://doi.org/10.7554/eLife.11389>
47. Chiang T, Schultz RM, Lampson MA. Age-dependent susceptibility of chromosome cohesion to premature separase activation in mouse oocytes. *Biology of Reproduction*. 2011;85(6):1279-1283. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.094094>
48. Tsutsumi M, Fujiwara R, Nishizawa H, Ito M, Kogo H, Inagaki H, Ohye T, Kato T, Fujii T, Kurahashi H. Age-related decrease of meiotic cohesins in human oocytes. *PLoS One*. 2014;7:9(5):e96710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096710>
49. Obradors A, Rius M, Cuzzi J, Daina G, Gutiérrez-Mateo C, Pujol A, Marina F, Márquez C, Benet J, Navarro J. Errors at mitotic segregation early in oogenesis and at first meiotic division in oocytes from donor females: comparative genomic hybridization analyses in metaphase II oocytes and their first polar body. *Fertility and Sterility*. 2010;93(2):675-679. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.08.050>
50. Fragouli E, Escalona A, Gutiérrez-Mateo C, Tormasi S, Alfarawati S, Sepulveda S, Noriega L, Garcia J, Wells D, Munné S. Comparative genomic hybridization of oocytes and first polar bodies from young donors. *Reproductive BioMedicine Online*. 2009;19(2):228-237.
51. Musacchio A. The molecular biology of spindle assembly checkpoint signaling dynamics. *Current Biology*. 2015;25(20):1002-1018. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.08.051>
52. Holubcová Z, Blayney M, Elder K, Schuh M. Human oocytes. Error-prone chromosome-mediated spindle assembly favors chromosome segregation defects in human oocytes. *Science*. 2015;348(6239):1143-1147. <https://doi.org/10.1126/science.aaa9529>
53. Herbert M, Kalleas D, Cooney D, Lamb M, Lister L. Meiosis and maternal aging: insights from aneuploid oocytes and trisomy births. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2015;7(4):a017970. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017970>
54. Gruhn JR, Al-Asmar N, Fasnacht R, Maylor-Hagen H, Peinado V, Rubio C, Broman KW, Hunt PA, Hassold T. Correlations between Synaptic Initiation and Meiotic Recombination: A Study of Humans and Mice. *American Journal of Human Genetics*. 2016;98(1):102-115. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.11.019>

Поступила 10.11.18

Recieved 10.11.18

Принята 11.12.18

Accepted 11.12.18