
МЕДИЦИНСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ

Кафедра медицинской генетики

Т. В. Харченко

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРИЧИНЫ НАРУШЕНИЙ
РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

Учебное пособие

Санкт-Петербург
Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова
2017

УДК 575.618.1(07)

ББК 52.5:57.1

X22

X22 Харченко Т. В.

Генетические причины нарушений репродуктивной функции :
учебное пособие / Т. В. Харченко. – СПб. : Изд-во СЗГМУ им.
И. И. Мечникова, 2017. – 48 с.

В учебном пособии рассматривается проблема генетических аспектов нарушений репродукции. Пособие систематизирует знания о роли генетических факторов в нарушениях репродуктивной функции, этиологии спонтанных абортс и врожденных аномалий, генетических методах диагностики и показаниях для генетических исследований при бесплодии, невынашивании беременности и неудачах ЭКО.

Учебное пособие предназначено для врачей-генетиков, акушеров-гинекологов, врачей-репродуктологов и врачей других специальностей, клинических ординаторов и аспирантов.

Ил. 19. Табл. 4. Библиогр. : 6 назв.

Рецензенты: *А. М. Гзззян* – руководитель отдела вспомогательных репродуктивных технологий ФГБНУ НИИ «Акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», д-р мед. наук; *Т. В. Кузнецова* – ведущий научный сотрудник ФГБНУ НИИ «Акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», д-р биол. наук.

Утверждено в качестве учебного пособия методическим советом ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И. И. Мечникова Минздрава России, протокол № 2 от 12 мая 2017 г.

УДК 575.618.1(07)

ББК 52.5:57.1

© Т. В. Харченко, 2017

© Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2017

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в структуре обращаемости в медико-генетические центры существенно возросла доля пациентов с нарушениями репродуктивной функции. Прежде всего, это супружеские пары с привычным невынашиванием, для которых консультация генетика является обязательным этапом в стандарте обследования, бесплодные пары, пары с повторными неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения, пациенты с нарушениями полового развития.

В ряде случаев без участия генетиков проблемы бесплодия и невынашивания беременности не могут быть решены даже с использованием современных методов вспомогательных репродуктивных технологий.

В учебном пособии рассмотрены вопросы, касающиеся роли генетических факторов в нарушениях репродуктивной функции у мужчин и женщин, алгоритмов генетического обследования при бесплодии и привычном невынашивании.

ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

С генетическими факторами связано до 15% мужского и до 10% женского бесплодия. Клинико-генеалогическое и лабораторное исследования позволяют выявлять наследственный генез нарушений репродуктивной системы и оптимально проводить их коррекцию. В ряде случаев единственным вариантом является применение вспомогательных репродуктивных технологий с использованием донорских гамет.

На сегодня известно более 200 генов, ассоциированных с бесплодием у обоих полов, гены β -субъединиц лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормонов (ФСГ), а также гены их рецепторного аппарата, гены рецептора гонадотропин-освобождающего гормона, недостаточность ферментов стероидогенеза. В генезе невынашивания беременности существенную роль играют особенности аллельного полиморфизма генов системы детоксикации ксенобиотиков, фолатного обмена, главного комплекса гистосовместимости.

Однако хромосомные аномалии являются наиболее частой генетической патологией при нарушениях фертильности, поэтому их необходимо исключить прежде всего, и первым этапом в генетическом обследовании пациентов или супружеских пар с репродуктивными проблемами является цитогенетическое исследование.

В пособии рассматриваются ситуации, когда нарушения репродуктивной функции являются единственной причиной обращения за медико-генетической консультацией без затрагивания многочисленных наследственных заболеваний с тяжелыми соматическими проявлениями, либо сопровождающихся грубыми нарушениями умственного развития, при которых нарушения репродуктивной функции являются лишь сопутствующей патологией. Кроме того, рассмотрены лишь некоторые, наиболее распространенные генные мутации, имеющие прикладное значение, в частности хромосомные аномалии.

К бесплодию или репродуктивным потерям как у женщин, так и у мужчин может привести целый ряд различных нарушений хромосом (рис. 1).

Аномалии половых хромосом могут иметь фенотипические последствия в виде различных аномалий полового развития, дисгенезии гонад, нарушений цикла у женщин или нарушений сперматогенеза у мужчин, что чаще встречается при числовых аномалиях хромосом либо, иногда, без видимых анатомических изменений при структурных перестрой-

ках, – приводить к развитию бесплодия, реже – привычному невынашиванию беременности.

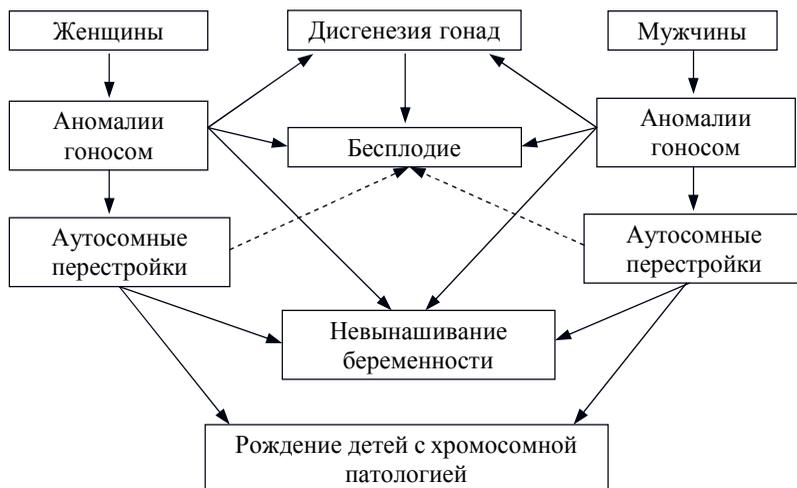


Рис. 1. Схема вклада различных хромосомных нарушений в репродуктивные проблемы.

Аномалии половых хромосом (гоносом) составляют около $\frac{2}{3}$ от всех хромосомных нарушений при первичном бесплодии, и в большинстве случаев непосредственной причиной репродуктивных проблем при этом являются анатомические или функциональные нарушения полового развития.

Структурные аномалии аутосом, как правило, не влекут за собой анатомических или функциональных нарушений полового развития, но могут являться причиной так называемого идиопатического бесплодия, невынашивания беременности, эмбриональных потерь на доимплантационных стадиях, повторных неудач при ЭКО, и повторного рождения детей с хромосомным дисбалансом.

Вклад мужского и женского факторов в репродуктивные проблемы на всех этапах примерно одинаков. Исходы беременностей при носительстве сбалансированных хромосомных перестроек носят вероятностный характер и не исключают возможности рождения здоровых детей, поэтому при бесплодии и/или привычном невынашивании беременности (повторных неудачах ЭКО) вне зависимости от наличия детей в предыдущих браках обследовать всегда следует обоих партнеров.

НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

Половая дифференцировка – последовательный и упорядоченный процесс. В основе его лежит генетический пол, формирующийся в момент оплодотворения. Генетический пол определяется хромосомным набором и отсутствием мутаций в генах половой дифференцировки. Генетический пол формирует гонадный пол, то есть определяет развитие гонад по мужскому или женскому типу, что в свою очередь контролирует фенотипический пол. Хромосомные аномалии при нарушении нормального полового развития в большинстве случаев затрагивают половые хромосомы. Случаи несоответствия фенотипического или гонадного пола хромосомному могут быть обусловлены мутациями либо микроструктурными перестройками как в половых хромосомах, так и в аутосомах.

Генетические аномалии при репродуктивных нарушениях у женщин

Аномалии в системе половых хромосом у женщин в большинстве случаев приводят к нарушению формирования полового аппарата, что манифестируется прежде всего возникновением первичной, реже – вторичной аменореи. Частота хромосомных аномалий среди больных, направляемых на кариотипирование по поводу первичной аменореи, составляет 40 – 45%.

Синдром Шерешевского–Тернера

Наиболее частой причиной первичной аменореи (около 30% случаев) является **синдром Шерешевского–Тернера** (МКБ-10 Q96,0–Q96,9) – **истинная дисгенезия гонад у женщин**, сопровождающаяся низкорослостью и половым инфантилизмом. На хромосомном уровне причинами синдрома Шерешевского–Тернера являются моносомия X, различные мозаичные формы и ряд структурных перестроек с вовлечением X- и Y-хромосом (рис. 2).

При моносомии единственная X-хромосома в большинстве случаев (около 90%) имеет материнское происхождение, то есть к возникновению моносомии приводит потеря половой хромосомы в отцовском гаметогенезе.

45,X/46,XX или 45,X/46,XY

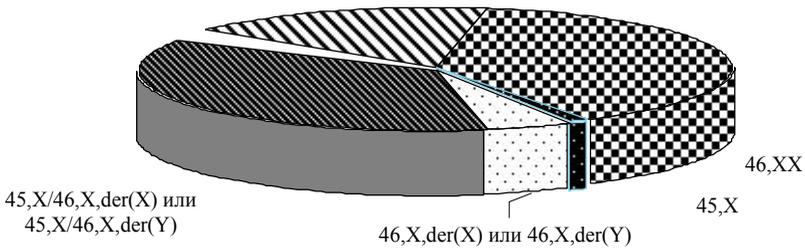


Рис. 2. Хромосомные аномалии при синдроме Шерешевского–Тернера.

Многообразие цитогенетических причин синдрома Шерешевского–Тернера влечет за собой и разнообразие фенотипических проявлений. В табл. 1 представлены различные варианты внутренних гениталий, обнаруживаемые при ультразвуковом обследовании пациенток с синдромом Шерешевского–Тернера.

Таблица 1

Результаты УЗИ внутренних гениталий у больных с синдромом Шерешевского–Тернера

Матка	Яичники
Аплазия – 11%	Отсутствуют – 69%
Гипоплазия – 82%	Гипопластичные, без фолликулов – 20%
Нормальная – 4%	Гипопластичные, с фолликулами – 11%
Двурогая матка – 2%	

Классическая форма синдрома Шерешевского–Тернера чаще характерна для больных с кариотипом 45,X и сопровождается целым рядом фенотипических проявлений, так называемым тернеровским фенотипом.

Спектр этих аномалий довольно широк, и хотя ни одна из них не является ни облигатной, ни патогномоничной для синдрома Шерешевского–Тернера, комплекс таких нарушений позволяет вовремя заподозрить наличие данной патологии. К наиболее характерным внешним проявлениям синдрома Шерешевского–Тернера относятся прежде всего

низкий рост (в среднем $141 \pm 0,62$ см), короткая широкая шея, крыловидные складки на шее, гипертелоризм сосков и втянутые соски, отсутствие выраженных молочных желез, вальгусная деформация локтевых суставов, щитообразная грудная клетка, слабый рост волос на затылке. Возможны пороки развития внутренних органов, в 10–20% случаев наблюдается коарктация аорты. Внутренние половые органы сформированы правильно, но имеют меньшие, чем в норме размеры, наружные, как правило, недоразвиты, половой инфантилизм. Вместо яичников в большинстве случаев определяется недифференцированный зачатковый тяж, отсутствуют герминативные клетки. В процессе эмбриогенеза появляются примордиальные зародышевые клетки, которые впоследствии исчезают в результате ускоренной атрезии. К возрасту ожидаемого полового созревания эти тяжи в большинстве случаев уже не содержат различимых фолликулов и яйцеклеток; в них присутствует фиброзная ткань, неотличимая от нормальной стромы яичников, однако в редких случаях сохраняется достаточное число фолликулов, чтобы иногда возникали менструации.

Диагноз синдрома Шерешевского–Тернера может быть поставлен в разном возрасте. При классической форме синдрома Шерешевского–Тернера с ярко выраженным тернеровским фенотипом больная обычно попадает в поле зрения неонатологов, и диагноз устанавливается в неонатальном периоде.

При отсутствии крыловидной складки и лимфатического отека стоп и кистей подозрения на синдром Шерешевского–Тернера впервые могут возникнуть в более старшем возрасте, когда начинается заметное отставание в росте.

В большинстве случаев диагноз ставится в пубертатный период, когда становятся очевидными задержка роста и полового развития и наблюдается первичная аменорея. Однако примерно в 10% случаев, как правило, при мозаичных вариантах или структурных перестройках наблюдается отсутствие выраженного тернеровского фенотипа, и диагноз часто впервые ставится в более взрослом возрасте, когда женщина обращается с жалобами на нарушения менструального цикла, вторичную аменорею или бесплодие.

В табл. 2 приведены некоторые корреляции между кариотипом и фенотипическими проявлениями при различных цитогенетических вариантах синдрома Шерешевского–Тернера.

Зависимость фенотипических проявлений от соотношения различных клеточных клонов не доказана.

**Корреляции кариотип–фенотип при синдроме
Шерешевского–Тернера**

Кариотип	Средний рост	Половое развитие
45,X	141 см	3% менструации 5% развитие молочных желез
Мозаичные формы моно- сомии X	154 см	12% менструации 18% развитие молочных желез
Структурные аномалии X- хромосом	Варьирует	40% развитие молочных желез и наличие менструации

Среди структурных аномалий X-хромосомы, являющихся причиной синдрома Шерешевского–Тернера, наиболее часто встречаются делеции короткого – кариотип 46,X,del(Xp) или длинного плеча – кариотип 46,X,del(Xq), делеции обоих плеч с формированием кольцевой X-хромосомы – кариотип 45,X,r(X) и изохромосомы по длинному плечу X-хромосомы – кариотип 45,X,i(Xq), реже – псевдоизоцентрические X – 45(X),psudic(X). Изохромосомы по короткому плечу X-хромосомы – кариотип 45,XX,i(Xp) – несовместимы с жизнью, и ранее описанные случаи на самом деле являются вариантом делеции длинного плеча. Структурные аномалии могут вовлекать различные участки X-хромосомы, размеры этих участков также значительно варьируют.

У больных, имеющих кариотип со структурными аномалиями X-хромосом, диапазон фенотипических проявлений очень широк. Часть женщин имеет типичный тернеровский фенотип с низким ростом, дисгенезией гонад и соматическими аномалиями, у других отмечаются лишь аномалии половых желез. Среди больных со структурными аномалиями нередко отмечаются выраженные молочные железы, и до 40% женщин имеют менструации. Степень выраженности заболевания зависит от типа хромосомной аномалии, величины и локализации поврежденных участков. В частности, делеции длинного плеча приводят к менее тяжелым повреждениям, чем делеции короткого плеча или изохромосомы по длинному плечу. Низкий рост обусловлен утратой гена *SHOX* (short stature homeobox) MIM 312865, локализованного в псевдоаутосомном регионе короткого плеча X-хромосомы (регион Xp22), поэтому низкорослость встречается при структурных перестройках с вовлечением короткого плеча X.

В целом наблюдаются следующие закономерности корреляций фенотипических проявлений и структурных аномалий X-хромосомы.

Делеция короткого плеча X-хромосомы – кариотип 46,XX,del(Xp) и изохромосома по длинному плечу – кариотип 46,X,i(Xq) имеют фенотипические проявления, сходные с проявлениями кариотипа 45,X. Наличие изохромосомы приводит к более тяжелым фенотипическим проявлениям, чем делеции. Степень проявления заболеваний у женщин с делециями обычно коррелирует с величиной утраченного участка хромосомы. Менее всего функция яичников страдает при делециях только дистальной части короткого плеча X-хромосомы.

Делеции части или всего длинного плеча X-хромосомы не приводят к развитию тернеровского фенотипа и проявляются лишь дисгенезией гонад. Женщины, как правило, имеют нормальный рост, около 20% менструируют. Часто единственным проявлением делеций в регионе Xq26→Xq28 является **преждевременное истощение яичников**.

Несмотря на то, что у части женщин с мозаичными и структурными вариантами синдрома Шерешевского–Тернера имеются менструации, подавляющее большинство из них бесплодны. Однако описаны не только случаи наступления беременности у таких женщин, но и семейное носительство aberrантной X-хромосомы. На рис. 3 представлена родословная, в которой делетированная X-хромосома присутствовала у матери и двух сестер-близнецов. У обеих дочерей после пренатальной диагностики родились дочери с нормальным кариотипом, однако у одной из них до успешной беременности три предыдущих закончились ранними выкидышами.

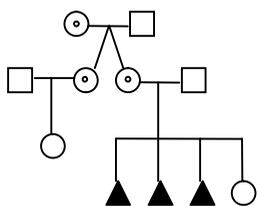


Рис. 3. Родословная с наследованием синдрома Шерешевского–Тернера с del(Xp21::) (Материалы лаборатории пренатальной диагностики ФГБНУ НИИ «АГиР им. Д. О. Отга»).

Смешанная дисгенезия гонад

Помимо аномалий, связанных только с X-хромосомой, в ряде случаев больные с синдромом Шерешевского–Тернера имеют кариотип, в котором присутствует материал Y-хромосомы, либо в мозаичной форме 45,X/46,XY, либо в виде транслоцированного участка.

Присутствие Y-хромосомы или ее участков в женском кариотипе может приводить не только к возникновению синдрома Шерешевского–Тернера. Тернеровский фенотип отмечается примерно у трети пациентов с присутствием Y-хромосомы или ее фрагментов в кариотипе. Возможны и другие пути фенотипического развития носителей такого кариотипа – **смешанная форма дисгенезии гонад**, формирование мужского фенотипа, истинный гермафродитизм.

Смешанная дисгенезия гонад – это состояние, при котором у фенотипических мужчин или женщин с одной стороны имеется яичко, а с другой – гонадный тяж. При этом яичко у большинства больных расположено интраабдоминально; в таком случае пациенты относятся к женскому полу. Лиц с яичком в паху или в мошонке считают мальчиками. Почти всегда есть матка, влагалище и, по крайней мере, одна маточная труба. У большинства больных обнаруживается мозаицизм 45,X/46,XY, реже – химеризм 46,XX/46,XY.

В табл. 3 приведены основные фенотипические варианты развития при кариотипе с участием Y-хромосомы.

Примерно 60% таких больных считают девочками, однако у большинства имеются аномалии развития наружных гениталий, включая гипертрофию клитора, уrogenитальный синус и в различной степени сращенные в мошонку половые губы.

Намного реже у пациентов с наличием клона, содержащего материал Y-хромосомы, возникает истинный гермафродитизм. Истинный гермафродитизм – это состояние, при котором у больного есть и яичники и яички или гонады с гистологическими особенностями того и другого пола (овотестис). Если гонады представлены только овотестис, больные всегда бесплодны, если имеются нормально сформированные гонады, описаны единичные случаи фертильности пациентов, причем как с мужским, так и с женским фенотипом. Большую роль при этом играет наличие правильно сформированных (или хирургически реконструированных) наружных и внутренних половых органов.

**Фенотип при мозаицизме с присутствием
клонов, содержащих Y-хромосому**

Показатели	Проявления
Внешний вид	Невысокий рост, половой инфантилизм в пубертате, специфические соматические стигмы дисгенезии гонад
Наружные половые органы	Женские → двойственные → мужские
Гонады	Streak → дисгенетичные яички → нормальные яички; Streak + дисгенетичные яички – «смешанная дисгенезия гонад»
Дериваты мезонефральных (вольфовых) и парамезонефральных (мюллеровых) протоков	Streak → матка с трубами; дисгенетичные яички → различная степень развития; яички → дериваты мезонефральных протоков
Кариотип	Наличие клона, содержащего Y-хромосому
Генетическая основа патологии	Мозаицизм по половым хромосомам является следствием потери Y-хромосомы при клеточных делениях у эмбриона, химеризм возникает при слиянии мужской и женской зигот

Наличие Y-хромосомы в женском кариотипе является сигналом онкологической настороженности – частота неоплазий в гонадах у таких больных составляет 15–20%. Семиномы встречаются чаще, чем гонадобластомы. Опухоли могут возникать и до полового созревания, поэтому во всех случаях выявления Y-хромосомы у фенотипической женщины рекомендуется проведение гонадэктомий. Удаление дисгенетичного яичка в раннем возрасте также предотвращает возникновение излишней вирилизации в пубертате.

При истинном гермафродитизме нормально сформированные гонады озлокачествляются относительно редко, при наличии овотестис в них могут возникнуть опухоли.

Реверсия пола у женщин

В ряде случаев можно наблюдать полную реверсию пола. Носители кариотипа 46,XY могут быть фенотипическими женщинами, а при кариотипе 46,XX развивается мужской фенотип. Строго говоря, «женщины»

с кариотипом 46,XY являются мужчинами с дисгенезией гонад, синдромом тестикулярной феминизации или синдромом Фразьера. Однако, поскольку фенотип, наружные половые органы, психосексуальная ориентация и паспортный пол у них женские, данная аномалия также будет рассмотрена далее.

Одним из вариантов патологии полового развития у лиц с нормальным мужским кариотипом 46,XY является **чистая дисгенезия гонад (синдром Свайера)** (МКБ-10 Q97.3 МММ 400044). Синдром Свайера вызван мутациями или делециями гена *SR*Y (Sex-determining Region Y, МММ 480000), локализованного в коротком плече Y-хромосомы. В редких случаях причиной рождения ребенка с синдромом Свайера является сбалансированная транслокация (X;Y) у отца, в большинстве случаев мутации возникают *de novo*.

Больные имеют женский фенотип, половые органы, в том числе гонады, идентичные таковым у лиц с дисгенезией гонад (двусторонние гонадальные тяжи, инфантильные матка и маточные трубы, половой инфантилизм). В отличие от больных с синдромом Шерешевского–Тернера, больные с синдромом Свайера имеют нормальный или высокий (часто выше 170 см) рост, слаборазвитые молочные железы, при этом за исключением дисгенетичных гонад у них практически отсутствуют врожденные аномалии. Основное, о чем необходимо помнить при выявлении у женщины кариотипа 46,XY, – это высокий, до 20–30%, риск развития дисгерминомы или гонадобластомы. Малигнизация может происходить уже в 1–2-м десятилетии жизни, поэтому столь важно своевременное кариологическое обследование. Поскольку у пациентов с синдромом Свайера отсутствуют нормальные яичники и не могут формироваться фолликулы, самопроизвольное возникновение беременности невозможно, такие пациенты стерильны, однако при использовании методов ВРТ с участием донорской яйцеклетки они способны выносить беременность и родить ребенка.

Другой причиной возникновения женского фенотипа у индивидуумов с кариотипом 46,XY является синдром андрогенрезистентности (МММ 300068, МКБ-10 E34.5 – андрогенрезистентность) – патология рецепторов к андрогенам, вызываемая мутациями в гене AR (androgen receptor) МММ 313700. В процессе эмбриогенеза у этих больных под влиянием Y-хромосомы гонады дифференцируются как яички, которые секретируют тестостерон и вещество, ингибирующее мюллеровы протоки. Дефект гена AR приводит к потере чувствительности к тестостерону и дигидротестостерону, ответственных за формирование мужского

фенотипа (мужской уретры, предстательной железы, полового члена и мошонки) и формируется женский фенотип при отсутствии производных парамезонефральных протоков (маточных труб, матки и верхней трети влагалища).

Различные мутации в гене *AR* определяют различную выраженность степени андрогенрезистентности с полной или неполной **тестикулярной феминизацией** либо мужским фенотипом.

Классификация синдрома нечувствительности к андрогенам по фенотипу

1. Нормальная маскулинизация в сочетании с постнатальной андрогенной резистентностью.

2. Не вызывающий сомнения мужской фенотип с умеренным нарушением маскулинизации (изолированная гипоспадия).

3. Мужской фенотип с явными нарушениями маскулинизации, микропенис. Перинеальная гипоспадия, крипторхизм.

4. Неопределенный фенотип, наружные половые органы в промежуточном состоянии между клитором и penisом, губо-мошоночные складки различной степени сращения.

5. Женский фенотип с изолированными клитором и уретрой, гипертрофия клитора, частичное сращение больших половых губ.

6. Женский фенотип с частичным или полным оволосением лобковой и/или подмышечной зон.

7. Женский фенотип с полным отсутствием оволосения. Синдром тестикулярной феминизации.

Ген *AR* локализован в длинном плече X-хромосомы, локус Xq11–Xq12, наследование X-сцепленное рецессивное, описаны случаи рождения в одной семье нескольких «сестер» с **синдромом тестикулярной феминизации**. В зависимости от выраженности нечувствительности к андрогенам существует несколько разных фенотипов. Полная нечувствительность к андрогенам приводит к развитию **полной тестикулярной феминизации**. У таких больных женский фенотип, высокий рост, правильное телосложение, развитые молочные железы, характерно отсутствие оволосения лобка и подмышечной области. Наружные половые органы женские, клитор нормального или несколько уменьшенного размера. Влагалище короткое, слепо заканчивающееся, в ряде случаев вообще отсутствует или находится в рудиментарном состоянии, матка и маточные трубы отсутствуют. Гонады представлены яичками, которые могут находиться в брюшной полости, паховом канале или половых

губах. В детском возрасте диагноз ставится только при наличии паховых грыж или случайных находках при ультразвуковом исследовании. В большинстве случаев диагноз ставится после полового созревания в связи с наличием первичной аменореи.

При частичной потере чувствительности к андрогенам может формироваться **неполная тестикулярная феминизация**. При неполной тестикулярной феминизации наружные гениталии сформированы неправильно, при рождении возникают проблемы с определением пола. При ультразвуковом обследовании в брюшной полости или половых губах выявляются яички, в пубертатном периоде появляется лобковое и подмышечное оволосение. При постановке диагноза делается феминизирующая пластика, и больные воспитываются как девочки.

В тех случаях, когда наружные гениталии сформированы по мужскому или преимущественно мужскому типу, больных относят к мужскому полу.

Несмотря на то, что наличие Y-хромосомы при женском фенотипе может приводить к различным вариантам развития гонад, во всех случаях велика частота злокачественных новообразований. Это обусловлено наличием на коротком плече Y-хромосомы (Ypter-p11.2) региона GBY (гонадобластома), который участвует в обеспечении нормального сперматогенеза, но обладает онкогенным эффектом у фенотипических женщин. В связи с этим гонадэктомия показана при любом выявлении Y-хромосомы или ее фрагмента у больных с женским фенотипом.

Преждевременное истощение яичников

Хромосомные нарушения, связанные с дисгенезией гонад, могут приводить как к первичной, так и к вторичной аменорее. Однако в ряде случаев числовые или структурные аномалии X-хромосомы приводят к возникновению преждевременного истощения яичников у женщин с нормально развитыми гонадами. Хромосомные аномалии имеют 9–15% женщин с преждевременной недостаточностью яичников неясного генеза.

В настоящее время, когда возраст наступления первой беременности часто откладывается на четвертое десятилетие, проблема приобретает особую актуальность, так как женщины, у которых в молодом возрасте сохранялась нормальная репродуктивная функция, к этому времени становятся бесплодными. Среди хромосомных аномалий, приводящих к преждевременному истощению яичников, часто встречается **трисомия X-хромосомы** – кариотип 47,XXX (МКБ-10 Q97.0). Женщи-

ны с кариотипом 47,XXX не имеют аномалий физического и полового развития, средний рост 168–170 см, средний возраст менархе 12 лет, пока сохраняется нормальный менструальный цикл, больные фертильны, однако менопауза наступает в возрасте до 40 лет, при этом описаны случаи истощения яичников и на третьем десятилетии жизни.

Поскольку гены, отвечающие за возникновение преждевременного истощения яичников *POFI* (premature ovarian failure 1, МИМ # 311360) и *POFIB* (МИМ * 300603), локализованы в длинном плече X-хромосомы (соответственно Xq26–27 и Xq21.1) у больных с преждевременным истощением яичников часто встречаются и структурные аномалии, вовлекающие длинное плечо X-хромосомы.

Описаны многочисленные семейные случаи синдрома преждевременной недостаточности яичников, когда одинаковую хромосомную аномалию имели женщины из нескольких поколений одной семьи, при этом возраст наступления менопаузы мог отличаться на несколько лет и даже десятилетий.

Ген *POFI* ассоциирован с премутацией в гене *FMR* (fragile X mental retardation, МИМ 309550), поэтому преждевременное истощение яичников характерно также для женщин-носительниц мутации *FMR*. При цитогенетическом обследовании у таких женщин могут встречаться отдельные метафазные пластинки, содержащие полочки X-хромосомы в регионе Xq27.3, однако молекулярно-генетическое исследование является более надежным.

Таким образом, проведение цитогенетического исследования показано женщинам во всех случаях первичной аменореи, особенно при недоразвитии половых органов, гипергонадотропных вариантах вторичной аменореи и идиопатическом бесплодии. Следует отметить, что широко применявшийся до внедрения в практику метода дифференциального окрашивания хромосом анализ полового хроматина в большинстве случаев является недостаточно информативным, так как позволяет выявлять лишь числовые аномалии в системе половых хромосом, и ни в коем случае не может заменить исследования кариотипа.

Генетические аномалии при репродуктивных нарушениях у мужчин

Как известно, примерно в половине случаев причиной бесплодия супружеской пары являются мужчины, 20% случаев мужского бесплодия вызваны генетическими факторами, в том числе хромосомными анома-

лиями. Хромосомные перестройки у мужчин могут манифестировать в виде патоспермии. О возможной хромосомной аномалии свидетельствуют такие нарушения спермограммы, как азооспермия, тяжелая олигозооспермия (менее 5 млн/мл), устойчивая к терапии астенозооспермия, сочетанные формы патоспермии.

На рис. 4 представлен график зависимости частоты встречаемости хромосомных аномалий от количества сперматозоидов в эякуляте. Среди мужчин, страдающих полной азооспермией, частота встречаемости хромосомных аномалий достигает 15%. По мере нарастания концентрации сперматозоидов частота носительства хромосомных аномалий снижается, и при концентрации более 100 млн/1 мл частота встречаемости носителей хромосомных перестроек не отличается от общепопуляционной.

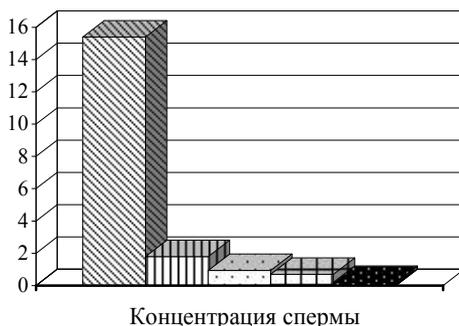


Рис. 4. Зависимость частоты хромосомных аномалий от концентрации сперматозоидов в эякуляте.

Синдром Клайнфельтера

Наиболее часто встречающимися у мужчин аномалиями кариотипа, облигатно приводящими к бесплодию, являются различные хромосомные варианты синдрома Клайнфельтера – кариотипы 47,XXY, 48,XXXXY, 49,XXXXXY. Данные нарушения кариотипа всегда сопровождаются гипогонадизмом и отсутствием зрелых сперматозоидов в эякуляте. Бесплодие вызвано гиалинизацией семенных канальцев и азооспермией. Зрелые сперматозоиды находят лишь в редких случаях при мозаицизме 46,XY/47,XXY.

Классический фенотип синдрома Клайнфельтера – высокий рост, евнухоидное телосложение с длинными конечностями, узкими плечами и тазом, горизонтальный рост волос на лобке, гинекомастия – встречается относительно редко. В большинстве случаев у мужчин с вариантом кариотипа 47,XXY и особенно с мозаичными формами данной патологии фенотипические проявления выражены нерезко, значительное количество больных остается недиагностированным. По данным медико-генетических центров, частота выявленных больных с синдромом Клайнфельтера в несколько раз ниже известной популяционной частоты. Для большинства больных характерна мужская психосексуальная ориентация, половая функция сохранна. Они вступают в брак и обращаются за медицинской помощью лишь по поводу бесплодия, при этом далеко не всегда их направляют на консультацию генетика, и синдром Клайнфельтера остается недиагностированным. Единственным, обязательно встречающимся у всех больных признаком является микроорхидизм. Яички небольшие, плотные, иногда длиной менее 2 см (всегда меньше 3,5 см). Риск возникновения рака молочных желез в 20 раз превышает таковой среди здоровых мужчин (но в 5 раз меньше такового у женщин). В настоящее время проблема бесплодия у мужчин с синдромом Клайнфельтера решается с применением методов ИКСИ.

Кариотипы, содержащие более чем одну дополнительную X-хромосому, как правило, влекут за собой выраженную соматическую патологию и умственную отсталость, и больные редко обращаются за помощью по поводу бесплодия. Так как характерная клиническая картина синдрома Клайнфельтера обусловлена наличием дополнительной X-хромосомы, при подозрении на данную патологию анализ полового хроматина может быть достаточно информативным.

Синдром дисомии Y

Еще одним часто встречающимся видом числовых аномалий гоносом у мужчин является дисомия Y-хромосомы – кариотип 47,XYY. Носители такого кариотипа в основном фертильны, однако бесплодие и аномалии сперматогенеза в этой группе встречаются чаще, чем в общей популяции. Теоретически у мужчин с дисомией Y половина сперматозоидов должна также быть дисомной (рис. 5), однако реально их частота не превышает 10–11%, поскольку основная часть анеуплоидных сперматозоидов не проходит спермиогенез.

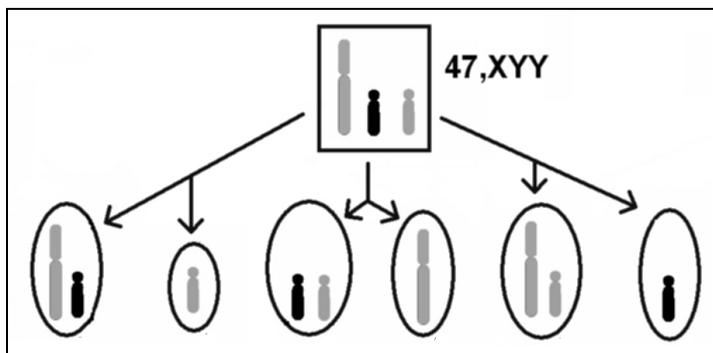


Рис. 5. Формирование анеуплоидных сперматозоидов при синдроме лисомии Y.

Реверсия пола у мужчин

Еще одной причиной азооспермии у мужчин является реверсия пола – кариотип 46,XX, синдром де ля Шапеля, XX-male, MIM 400045. Средний рост больных около 168 см, пропорции тела не нарушены. Вторичные половые признаки выражены, психосексуальная ориентация мужская, интеллект в норме. Единственной причиной направления на консультацию генетика является бесплодие, обусловленное азооспермией.

Реверсия пола у мужчин в большинстве случаев обусловлена переносом участка короткого плеча Y-хромосомы, содержащего ген *SRY* (Sex-determining Region Y, MIM 480000), на X-хромосому. Белок, кодируемый геном *SRY*, участвует в регуляции транскрипции генов, реализующих дифференцировку клеток Сертоли и развитие яичек.

Ген *SRY* располагается в дистальной части короткого плеча Y-хромосомы (локус Yp11.31), на участке, непосредственно примыкающем к псевдоаутосомному району, что обуславливает возможность неравного кроссинговера в этом регионе (рис. 6). В таких случаях мутация возникает *de novo* и носит спорадический характер. В этом же локусе находится ген *SHOXY* (short stature homeobox) MIM 400020, утрата которого обуславливает низкорослость ряда больных с синдромом де ля Шапеля. Описаны случаи, когда отец является носителем сбалансированной транслокации между X- и Y-хромосомами или, значительно реже, между Y-хромосомой и одной из аутосом. В таких случаях может наблюдаться рождение в одной семье нескольких sibсов с реверсией пола.

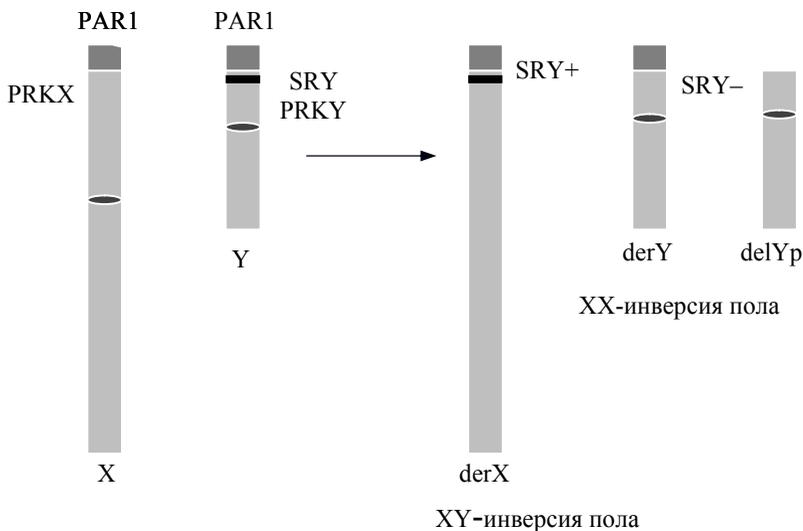


Рис. 6. Формирование реверсии пола в результате XY-транслокации.

Структурные перестройки Y-хромосомы

Гены, определяющие развитие пола по мужскому типу или отвечающие за сперматогенез, находятся в обоих плечах относительно короткой Y-хромосомы, поэтому интактность Y-хромосомы – необходимое условие нормального строения и функционирования мужской половой системы. Структурные перестройки с участием Y-хромосомы в большинстве случаев приводят к нарушениям фертильности у мужчин. На рис. 7 представлены различные варианты структурных перестроек Y-хромосомы.

Некоторые из этих перестроек затрагивают локус AZF (Azoospermia Factor). Локус AZF локализован в участке Yq11.2. В этом участке содержится 12 генов/генных семейств, отвечающих за сперматогенез. Однако в большинстве случаев нарушения в локусе AZF не определяются морфологически, на световом уровне и выявляются лишь с помощью молекулярно-генетических методов.

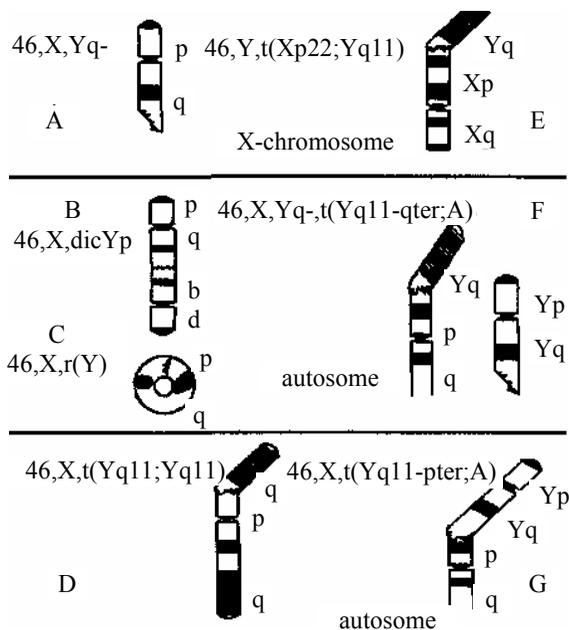


Рис. 7. Структурные аномалии Y-хромосомы с вовлечением локуса Yq11 (AZF) (по В. Б. Черных).

Подразделяют на три основных локуса AZF – AZFa, AZFb и AZFc (рис. 8). Микроделеции AZF проявляются отклонениями в спермограмме из-за нарушения сперматогенеза при сохраненной эндокринной функции яичек. Тяжесть проявления зависит от локализации делеции. При наиболее часто встречающихся (порядка 77% случаев) делециях AZFc может сохраняться остаточный сперматогенез, и бесплодие корригируется с помощью методов ИКСИ; мальчики, рожденные от таких отцов, также будут бесплодны. Делеции AZFa и AZFb встречаются значительно реже и приводят к полному или очаговому Сертоли-клеточному синдрому и азооспермии.

Структурные перестройки, вовлекающие аутосомы, в большинстве случаев приводят к невынашиванию беременности, нарушениям имплантации, повторным неудачам ЭКО и рождению детей с хромосомной патологией, однако в ряде случаев могут являться причиной мужского бесплодия.

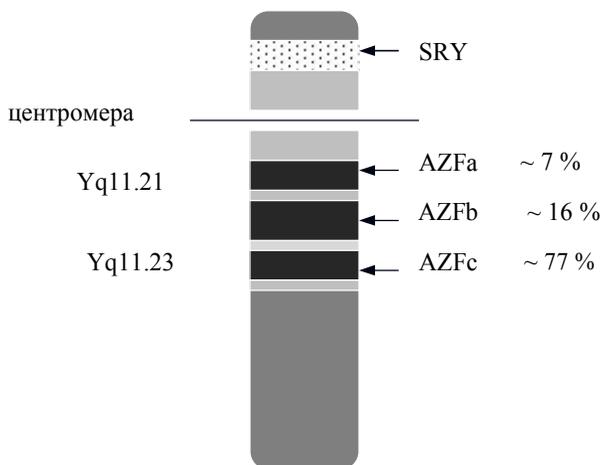


Рис. 8. Локусы AZF.

У носителей робертсоновских транслокаций в мейозе тривалент, образованный перестроенной хромосомой и нормальными акроцентриками, нередко образует устойчивую ассоциацию с половым бивалентом XY, что может приводить к блоку мейоза и нарушению сперматогенеза. Сперматозоиды с хромосомным дисбалансом, образующиеся в результате мейоза у носителей реципрокных транслокаций, могут аномально проходить спермиогенез, в результате чего возникает либо тератоспермия, либо сниженная частота зрелых форм сперматозоидов в эякуляте. При этом может наблюдаться снижение фертильности. Кроме того, в ряде случаев может происходить оплодотворение сперматозоидами с хромосомным дисбалансом, но эмбрионы погибают на ранних стадиях эмбриогенеза, что клинически выглядит как бесплодие.

Влияние инверсий зависит от их локализации и протяженности, парацентрические (не вовлекающие центромеру) и короткие перицентрические (захватывающие оба плеча хромосомы) инверсии обычно не оказывают влияния на фертильность, при протяженности инверсии более 50% длины хромосомы бесплодие наблюдается примерно в 12% случаев.

Основные моногенные причины азооспермии

Реверсия пола, обусловленная мутациями в гене *AR* – андрогенрезистентность, встречается как у женщин, так и у мужчин. Всего известно более 300 мутаций в данном гене, при ряде из них реверсии пола не

происходит, сохраняется мужской фенотип, и мутация проявляется в формах синдрома частичной нечувствительности к андрогенам, с гермафродитизмом или преимущественно мужскими гениталиями (синдром Рейфенштейна, МИМ # 312300), либо синдрома умеренной нечувствительности к андрогенам с мужскими гениталиями. В обоих случаях для больных характерны нарушения сперматогенеза и вирилизации, гинекомастия. Репродукция может осуществляться только с использованием методов ВРТ.

Еще одной распространенной генетической причиной мужского бесплодия являются мутации в гене *CFTR* (МИМ 602431) – трансмембранном регуляторе муковисцидоза, локализованном в хромосоме 7 (7q31.2). Это протяженный ген, в котором описано более 1000 мутаций. Рецессивные гомозиготы по большинству мутаций и компаунд-гетерозиготы по «тяжелым» мутациям страдают муковисцидозом. Более чем у 95% мужчин с муковисцидозом находят обструктивную азооспермию и врожденное двух- или одностороннее нарушение проходимости семявыносящих протоков. Часть компаунд-гетерозигот по «мягким» мутациям имеют обструктивную азооспермию единственным проявлением заболевания. Сперматогенез у таких больных сохранен и возможно использование ИКСИ. Следует обязательно помнить о риске муковисцидоза у потомства таких мужчин и проводить генетическое тестирование супруги на носительство мутаций в гене *CFTR*.

На рис. 9 приведена схема генетического обследования мужчин с нарушениями репродуктивной функции.

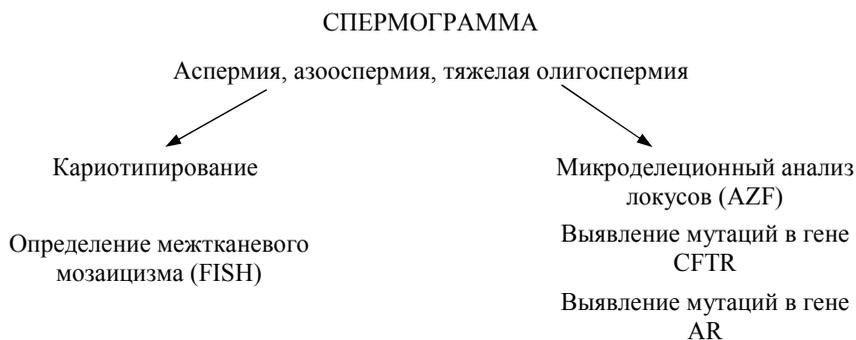


Рис. 9. Схема генетического обследования мужчин с нарушениями репродуктивной функции.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРИЧИНЫ НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

К нарушениям репродуктивной функции, помимо бесплодия, относится и невынашивание беременности. Существует целый ряд генетически обусловленных факторов – гормональная недостаточность, иммунологические конфликты, тромбофилии и др. – препятствующих пролонгированию беременности здоровым плодом. В данном пособии мы остановимся лишь на прерывании беременности, связанной с генетическими, прежде всего хромосомными, аномалиями у плода.

Ошибки в процессе мейоза, генотоксическое и тератогенное действие факторов внешней среды, носительство моногенных заболеваний и сбалансированных хромосомных перестроек родителем или родителями приводит к неизбежному возникновению беременностей генетически аномальными зародышами.

Невынашивание беременности как механизм отбора против генетически неполноценных эмбрионов

Спонтанное прерывание беременности является одним из основных механизмов естественного отбора у человека и препятствует появлению больных и генетически неполноценных детей. Как известно, до 15% всех клинически распознаваемых беременностей спонтанно прерывается на сроке до 20 нед беременности, при этом примерно половина из них имеет хромосомные аномалии. В исследованиях, включающих только выкидыши, произошедшие в первом триместре беременности, частота хромосомных аномалий составляет более 60%.

Механизмы, обеспечивающие рождение здорового потомства, включаются еще на презиготической стадии. У мужчин значительная часть содержащих хромосомный дисбаланс сперматозоидов не проходит стадию спермиогенеза и не участвует в оплодотворении. Женский мейоз заканчивается только после оплодотворения, и селекция генетически неполноценных ооцитов менее эффективна. Считается, что к моменту оплодотворения до 40% ооцитов и до 10% сперматозоидов содержат возникшие в процессе мейоза хромосомные аномалии, примерно 30% оплодотворенных зигот являются аномальными.

В процессе дробления зиготы могут возникнуть дополнительные хромосомные перестройки, обусловленные митотическим нерасхожде-

нием, и на третьи сутки частота аномальных эмбрионов достигает 50%. Большая часть этих аномальных эмбрионов не имплантируется, и клинически диагностируемая беременность не наступает. В дальнейшем аномальные эмбрионы продолжают элиминироваться, и среди новорожденных частота хромосомных перестроек составляет лишь около 2% (рис. 10). Частота встречаемости аномальных кариотипов при невынашивании коррелирует со сроками прерывания беременности и с возрастом матери. Чем раньше прерывается или замирает беременность, тем большее количество абортусов несет хромосомные перестройки. Так, при спонтанном прерывании беременности в 6–7 нед частота хромосомных аномалий достигает 70%, в то время как после 16 нед беременности этот показатель составляет лишь 17%, а после 20 нед – не превышает 3–5%.

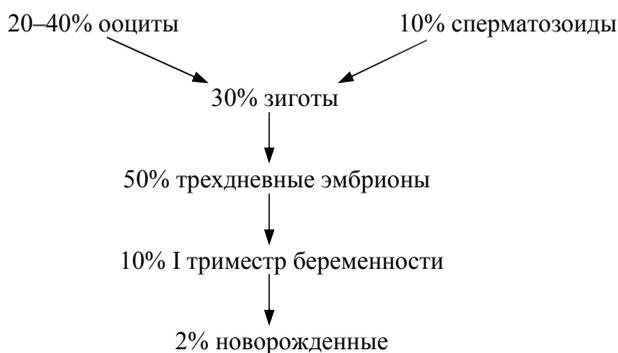


Рис. 10. Хромосомные аномалии в эмбриогенезе.

Частота хромосомной патологии при невынашивании возрастает с увеличением возраста матери. У женщин старшего репродуктивного возраста частота хромосомных аномалий как причина спонтанного прерывания беременности на ранних сроках превышает 80%. Основной причиной этого явления является увеличение частоты трисомных зачатий с увеличением возраста матери. Все остальные типы хромосомных нарушений, выявляемые при спонтанных абортах, не зависят от возраста матери. Следует отметить, что по некоторым данным эффект резекции части яичника приблизительно равен эффекту старения и также приводит к относительному увеличению числа трисомных зачатий.

Структура хромосомной патологии при репродуктивных потерях стабильна, при этом значительная часть хромосомных аномалий, при-

водящих к невынашиванию беременности, никогда не встречается у новорожденных. В табл. 4 приведена частота наиболее часто встречающихся при невынашивании хромосомных аномалий.

Таблица 4

Структура хромосомной патологии среди цитогенетически аномальных абортусов

Патология	Частота встречаемости, %
Трисомии	61,7
Из них:	
+16	21,8
+22	17,9
+21	10
Триплоидии	12,5
Тетраплоидии	9,7
Моносомия X	11,4
Структурные аномалии	4,7

Большую часть составляют различные трисомии, причем трисомия по хромосоме 21, наиболее частая у новорожденных, составляет из них лишь 10%, в то время как наиболее часто встречающаяся у абортусов трисомия по хромосоме 16 несовместима с жизнью. Отмечаются также анеуплоидии по нескольким аутосомам, также практически не встречающиеся у новорожденных. Другой частой формой хромосомных аномалий при спонтанных абортах являются три- и тетраплоидии. Эти аномалии в немозаичной форме практически не встречаются у новорожденных, описаны лишь единичные случаи, причем дети были либо мертворожденными, либо погибли в течение нескольких суток после родов. Интересно отметить, что существенную долю хромосомных аномалий, приводящих к спонтанным абортам, составляют моносомии по X-хромосоме, хотя эта аномалия и не вызывает тяжелой соматической патологии, и новорожденные с кариотипом 45,X имеют нормальную жизнеспособность.

В связи со столь высокой частотой хромосомных аномалий при ранних выкидышах встает вопрос о прогнозировании исходов последующих беременностей у женщин и риске рождения у них ребенка с хромосомной патологией.

Знание о хромосомных аномалиях у абортуса значительно улучшает прогнозирование и помогает выбрать верную тактику при ведении по-

следующих беременностей. Обследование по поводу невынашивания нельзя считать достаточным при отсутствии данных о кариотипе плода.

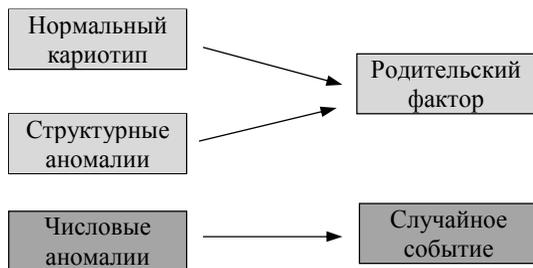


Рис. 11. Хромосомные аномалии при невынашивании беременности.

На рис. 11 представлены варианты кариотипов абортуса при плодном и родительском факторах прерывания беременности. Наиболее благоприятным, как это ни кажется странным на первый взгляд, является выявление числовой аномалии. В этом случае хромосомная аномалия в большинстве случаев является случайным событием, и последующая беременность может планироваться без дополнительных специальных обследований.

Нормальный кариотип абортуса требует дополнительного гинекологического обследования. Причины прерывания беременности могут быть связаны с наличием анатомических, эндокринных, инфекционных или иммунологических факторов. Структурные хромосомные перестройки могут возникать *de novo*, но в большинстве случаев возникают при сегрегации сбалансированной хромосомной перестройки у одного из родителей. Выявление структурной аномалии в абортном материале требует обязательного кариотипирования обоих родителей.

К сожалению, цитогенетическое обследование абортного материала проводится далеко не всегда. В этих случаях показанием для направления родителей на консультацию генетика и цитогенетическое исследование является наличие двух и более спонтанных выкидышей на раннем сроке.

Роль сбалансированных хромосомных перестроек в невынашивании беременности

Чаще всего причиной привычного невынашивания является наличие сбалансированной хромосомной перестройки у одного из родителей.

Популяционная частота носительства сбалансированных хромосомных aberrаций составляет 1:400, следовательно, супружеские пары, в которых один из партнеров является носителем сбалансированной хромосомной перестройки, встречаются с частотой примерно 1/100–200. Наличие сбалансированной перестройки не оказывает никакого влияния на фенотип носителей, и они могут передаваться из поколения в поколение, проявляясь лишь в увеличении числа неудачных беременностей в семье.

Цитогенетическое обследование супружеских пар с двумя и более спонтанными абортми в I триместре беременности в 9–17% случаев выявляет наличие хромосомных аномалий у одного из родителей.

Роль транслокаций в невынашивании беременности, реципрокные транслокации

Среди сбалансированных структурных перестроек основная доля, не менее 50%, приходится на реципрокные транслокации (рис. 12).

На рис. 13 приведена схема возможной сегрегации в мейозе при носительстве реципрокной транслокации одним из родителей и кариотипов оплодотворенной зиготы.

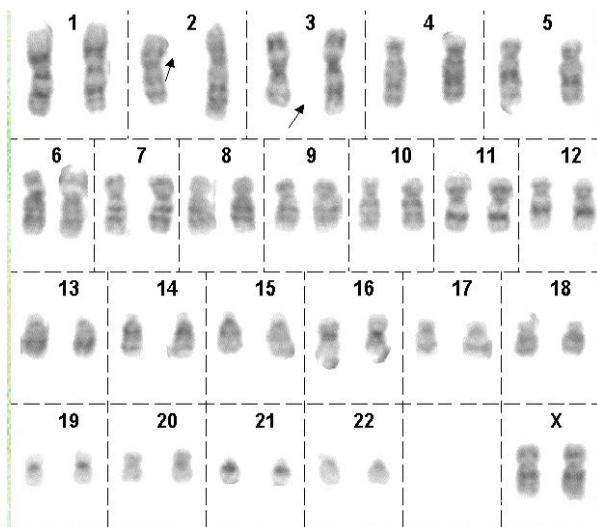


Рис. 12. Реципрокная транслокация 46,XX,
 $t(2;3)(q31;p23)$.

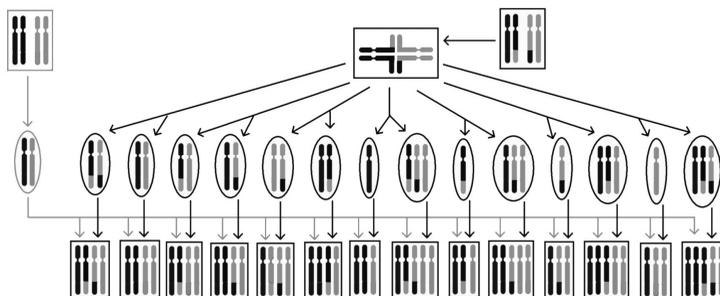


Рис. 13. Схема возможной сегрегации в мейозе и кариотипы плода при реципрокной транслокации.

Теоретически в 25% случаев будет нормальный кариотип, в 25% – сбалансированный кариотип; оба варианта приводят к нормальной беременности здоровым плодом. В 50% случаев несбалансированный кариотип повлечет за собой невынашивание беременности или рождение ребенка с хромосомной болезнью. В действительности, в зависимости от того, какие хромосомы вовлечены в транслокацию, а также от размера транслоцированного сегмента, могут возникать дополнительные аномалии поведения хромосом в мейозе. В зависимости от насыщенности генами транслоцированного участка может увеличиваться либо риск повторного выкидыша, либо риск рождения больного ребенка. Например, наличие у одного из родителей сбалансированной транслокации $t(5;15)(p10;q10)$ теоретически может привести к следующим исходам беременности: в 50% случаев возможна беременность здоровым плодом, в 25% – спонтанный выкидыш и в 25% случаев – рождение ребенка с синдромом «кошачьего крика».

Реальный риск рождения жизнеспособных детей с несбалансированным кариотипом может достигать 40%. Кроме того, существенное значение имеет пол носителя реципрокной транслокации. В случае мужского носительства эмпирический риск рождения больного ребенка

меньше, чем в случае носительства транслокации матерью, однако повышается риск бесплодия или привычного невынашивания, что подтверждает влияние хромосомных aberrаций на процесс сперматогенеза, которое приводит как к снижению спермопродукции, так и, возможно, к образованию функционально неполноценных гамет с хромосомным дисбалансом.

Носительство сбалансированных транслокаций не исключает возможности рождения здорового ребенка, однако в случае повторных неудачных беременностей методом выбора является ЭКО с преимплантационной диагностикой для исключения переноса в матку эмбрионов с несбалансированным кариотипом.

Негомологичные робертсоновские транслокации

Еще одним часто встречающимся среди (1,25 на 1000) типом сбалансированных перестроек являются робертсоновские транслокации (рис. 14), – результат центромерного слияния двух акроцентрических хромосом.

У человека возможны 15 различных вариантов робертсоновских транслокаций (рис. 15), чаще всего встречаются транслокации $t(13q;14q)$ – 33%, $t(14q;21q)$ – 30% и $t(21q;21q)$ – 17%.

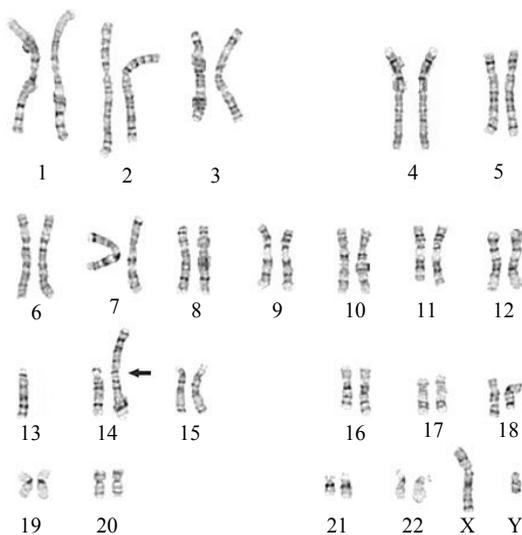


Рис. 14. Робертсоновская транслокация $45,XY,t(13;14)(q10;q10)$.

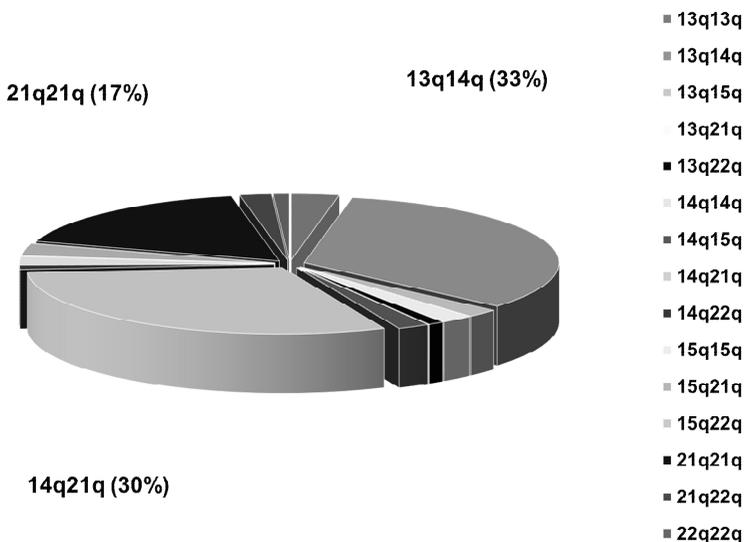


Рис. 15. Относительная встречаемость различных видов робертсоновских транслокаций.

В случае робертсоновских транслокаций необходимо различать два типа – негомолгичные и гомолгичные – транслокаций, образованных соответственно слиянием хромосом из разных пар или пары гомологов. На рис. 16 представлена схема образования гамет у носителя негомолгичной робертсоновской транслокации и варианты зигот после оплодотворения нормальными гаметами. В зависимости от типа сегрегации образуются 2 варианта генетически сбалансированных гамет (одна с перестройкой и одна с нормальным набором хромосом) и 4 варианта несбалансированных гамет. Несбалансированные гаметы в случае оплодотворения приводят либо к моносомии, летальной уже на ранних стадиях, либо к трисомии, фенотипические проявления которой зависят от природы лишней хромосомы. Реальное соотношение сбалансированных и несбалансированных гамет существенно отличается от теоретически ожидаемого. Частота несбалансированных сперматозоидов составляет 9%, а частота сбалансированных сперматозоидов почти в 2 раза превышает частоту сперматозоидов с нормальным кариотипом (соответственно 40% и 21%).

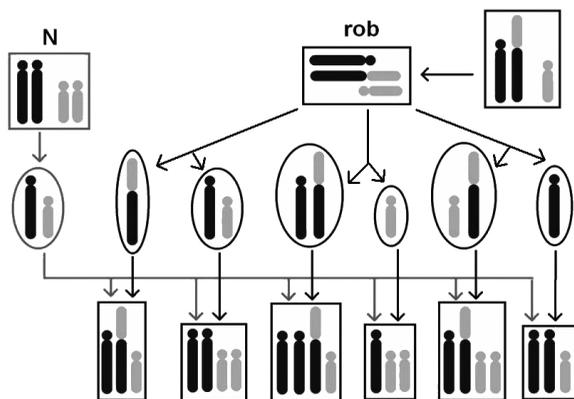


Рис. 16. Схема образования гамет у носителя негомологичной робертсоновской транслокации и варианты зигот после оплодотворения нормальными гаметами.

Последствия носительства робертсоновской транслокации сильно различаются как от природы вовлеченных в транслокацию хромосом, так и от пола носителя. Трисомии и моносомии по хромосомам 14 и 15 несовместимы с жизнью, поэтому во всех случаях хромосомного дисбаланса по этим хромосомам беременность будет прерываться. При носительстве $der(14;21)$ у матери риск рождения ребенка с транслокационной формой болезни Дауна достигает 10–15%, тогда как при отцовском носительстве $der(14;21)$ случаи несбалансированного кариотипа у потомства не зарегистрированы. В то же время $der(13;14)$ наследуется независимо от родительского происхождения и обнаруживается только в сбалансированном кариотипе. В целом обращает на себя внимание явное преобладание в потомстве носителей плодов с робертсоновскими транслокациями над плодами с нормальным кариотипом. При этом наследование продуктов центрического слияния происходит чаще, когда носительницей перестройки является мать.

Важной особенностью поведения робертсоновских транслокаций в сперматогенезе является ассоциация тривалента с половым бивалентом XY.

Нередко такая устойчивая ассоциация приводит к блоку мейоза и сопровождается выраженными нарушениями сперматогенеза, что является причиной бесплодия или снижения фертильности у значительной части мужчин – носителей робертсоновских транслокаций.

Гомологичные робертсоновские транслокации

Наличие у одного из родителей гомологичной робертсоновской транслокации может привести к абсолютному невынашиванию беременности либо к возможности рождения только больного ребенка. Следует отметить, что в отличие от обычных структурных нарушений кариотипа риск при гомологичных робертсоновских транслокациях не зависит от того, кто из родителей является носителем.

В зависимости от того, какие хромосомы вовлечены в перестройку, проявлениями такого рода аномалий хромосом являются либо невынашивание беременности, либо рождение детей с хромосомной патологией. На рис. 17 видно, что в таких случаях невозможно формирование нормальных гамет, они всегда будут иметь либо избыток, либо недостаток генетического материала.

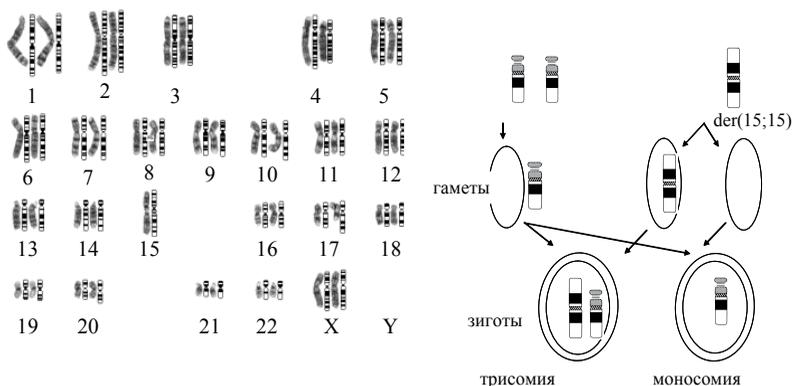


Рис. 17. Гомологичная робертсоновская транслокация.

Оба варианта являются несовместимыми с жизнью, единственной возможностью рождения здорового ребенка в такой семье является экстракорпоральное оплодотворение с использованием донорских гамет. Трисомии по акроцентрическим аутосомам 13, 21 и 22 сублетальны. Если они вовлечены в перестройку, теоретически **100% рожденных детей должны быть больны** (соответственно синдром Патау, синдром Дауна, синдром трисомии 22). На практике транслокация $rob(13;13)$ обычно летальна (невынашивание беременности), транслокационная форма синдрома Патау с вариантом $rob(13;13)$ встречается при пренатальной диагностике, особенно в I триместре беременности, и крайне

редко встречается у новорожденных. Данных по транслокационной трисомии 22, как по крайне редко встречающемуся заболеванию, недостаточно. Ребенок с синдромом Дауна с транслокацией $rob(21;21)$ вполне жизнеспособен, но большинство эмбрионов с транслокационной трисомией также погибает. Следовательно, во всех случаях носительства гомологичных робертсоновских транслокаций высок риск бесплодия или привычного невынашивания, при этом невозможно рождение здоровых детей.

Несмотря на то, что индивидуальный прогноз исхода беременности зависит от того, какие именно хромосомы вовлечены в транслокацию, во всех случаях носительства как реципрокных, так и робертсоновских транслокаций показана пренатальная диагностика, что позволит полностью исключить возможность рождения ребенка с хромосомной патологией. В настоящее время для больных с высоким риском зачатия с хромосомной аномалией методом выбора является экстракорпоральное оплодотворение фертильных женщин с последующей предимплантационной диагностикой.

Роль инверсий в невынашивании беременности

Помимо сбалансированных транслокаций в семьях с привычным невынашиванием могут наблюдаться инверсии. Кариотип содержит одну перестроенную хромосому, участок которой развернут на 180° . Баланс генов не нарушен, носитель фенотипически нормален и, теоретически его потомки в любом случае: наследуют ли они нормальную или инвертированную хромосому, должны быть здоровы. Картину усложняет наличие кроссинговера. Отсутствие гомологии в инвертированном участке нарушает нормальный кроссинговер, возникают инверсионные петли, в результате разрыва которых могут возникнуть хромосомные аномалии. При этом имеет принципиальное значение, является ли инверсия парацентрической или перичцентрической (то есть захватывающей или не захватывающей центромеры), а также протяженность инвертированного участка.

Парацентрические инверсии

Парацентрические инверсии незначительной протяженности, как правило, не приводят к рождению больных детей, невынашиванию беременности или клиническому бесплодию, так как рекомбинация на инвертированном участке не происходит. В случае более протяженной

инверсии (как правило, захватывающей почти целое плечо) в результате рекомбинации возникают дицентрические хромосомы или ацентрические фрагменты (рис. 18).

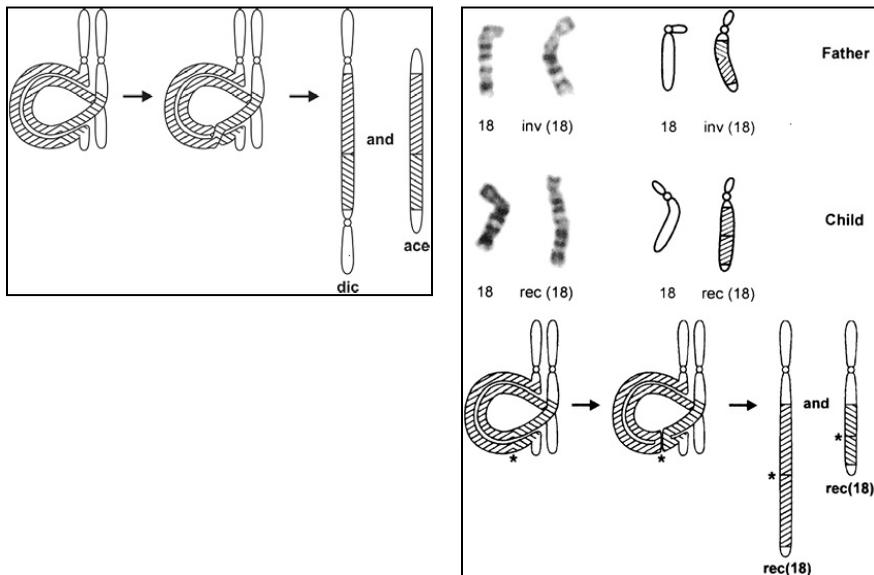


Рис. 18. Рекомбинация при парацентрической инверсии.

В случаях инверсии в половых хромосомах у родителей могут рождаться жизнеспособные дети с дицентрическими хромосомами X или Y, вторая центмера инактивируется, и хромосома функционирует как структурно измененный моноцентрик. Дицентрические хромосомы по аутосомам и ацентрические фрагменты летальны, и их возникновение приводит к невынашиванию беременности. Описаны также единичные случаи формирования рекомбинантных хромосом в виде простых делеций или дупликаций. Поскольку случаи рождения больных детей у носителей парацентрических инверсий крайне редки, пренатальная диагностика обычно рекомендуется лишь при наличииотягощенного семейного анамнеза.

Перицентрические инверсии

Перицентрические инверсии имеют гораздо более серьезные последствия как для фертильности, так и по риску рождения больных детей. После расхождения хромосом из инверсионной петли возникают 4 типа

гамет, два из которых содержат рекомбинантные (содержащие делетированный либо дуплицированный участок) хромосомы (рис. 19).

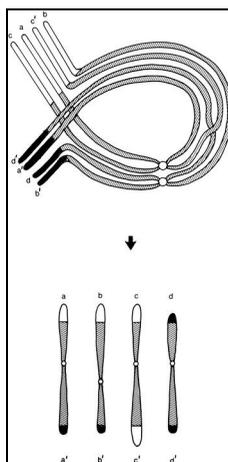


Рис. 19. Рекомбинация при перичентрической инверсии.

Частота кроссинговера напрямую зависит от протяженности инвертированного участка – при длине инвертированного участка менее 30% хромосомы рекомбинация отсутствует, при протяженности инверсии более 50% длины хромосомы, частота рекомбинации может достигать 30%. В зависимости от хромосомы и величины инверсии рекомбинантные хромосомы могут являться либо летальными, либо сублетальными. Следовательно, последствием носительства перичентрической инверсии может быть в различных случаях и бесплодие, и невынашивание, и рождение больного ребенка. Эмпирический риск рождения больного ребенка для всех инверсий составляет 10%, однако может изменяться в зависимости от конкретной ситуации. Носителям перичентрической инверсии показана пренатальная диагностика.

При обследовании по поводу привычного невынашивания редко выявляется малопроцентный мозаицизм, в основном по X-хромосоме, однако описаны случаи и бессимптомного малопроцентного мозаицизма по 21-й хромосоме. Случаи повторных рождений детей или повторных спонтанных аборт при отсутствии хромосомных нарушений у родителей можно объяснить также гонадным мозаицизмом, то есть присутствием аномальных клонов только в ткани гонад.

Другие хромосомные изменения при нарушениях репродукции

Некоторым фактором риска преждевременного прерывания беременности и бесплодия могут являться и экстра-варианты нормального полиморфизма хромосом, а также перенос прицентромерного гетерохроматина с длинного плеча хромосом 1, 9 и 16 на короткое – 1ph, 9ph и 16ph, особенно инверсии прицентромерного гетерохроматина хромосомы 9. Несколько чаще такие нарушения встречаются при нарушениях репродукции у мужчин. Однако поскольку такие наблюдения носят статистический характер и оценить связь изменений гетерохроматина с репродуктивными проблемами конкретного пациента не представляется возможным, в настоящее время данные о наличии вариантов нормального полиморфизма не выносятся в цитогенетическое заключение.

У больных с бесплодием и аномалиями половой дифференцировки несколько чаще чем в среднем по популяции встречаются сверхчисленные малые хромосомы. Частота носителей маркерных хромосом составляет 1:1000 в популяции, при этом при бесплодном браке она возрастает до 1,95:1000, а у пациентов с аномалиями половой дифференцировки – до 2,93:1000. Причиной этого скорее всего является то, что в этих случаях маркерная хромосома содержит материал X- или Y-хромосом.

ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

С развитием вспомогательных репродуктивных технологий цитогенетическая диагностика получила еще одну область применения. Прежде всего, это донорство спермы или яйцеклетки. Для доноров выполнение кариологического исследования является обязательным. Наличие здоровых детей не может являться поводом для отказа от проведения подобного анализа, так как при носительстве сбалансированной транслокации риск рождения ребенка с хромосомными аномалиями не зависит от числа здоровых детей.

Помимо обследования доноров в ряде случаев кариологический анализ необходимо проводить и самим пациентам. Особенно это касается мужчин, направленных на интрацитоплазматическую инъекцию спермы (ICSI). Причиной нарушений сперматогенеза часто являются хромосомные аномалии. Поэтому не удивительно, что они часто наблюдаются у лиц, которым показано ICSI. В этой группе хромосомные аномалии выявлены в 5,8% случаев. Большую часть выявленных аномалий составляют нарушения в системе половых хромосом – 4,2% случаев, в основном варианты синдрома Клайнфельтера, реже присутствуют аномалии аутосом – 1,5% случаев.

Носительство хромосомных нарушений в системе половых хромосом может привести к увеличению числа анеуплоидий при сперматогенезе. Кроме того, у таких мужчин высок риск возникновения других хромосомных аномалий, в том числе *de novo*. Транслокации, в том числе и с участием X- и Y-хромосом, также могут приводить к формированию аномальных гамет. Все это не только увеличивает риск рождения больных детей, но и снижает эффективность ЭКО.

Среди женщин, которым планируется экстракорпоральное оплодотворение, по статистическим данным около 1,5% имеют хромосомные аномалии – инверсии или сбалансированные транслокации. Это лишь незначительно превышает популяционный уровень, однако в связи со сложностью и стоимостью процедур желательно знать заранее о наличии хромосомных аномалий, чтобы свести к минимуму возможный риск.

Сбалансированные транслокации могут быть задействованы в патогенезе имплантационных потерь при экстракорпоральном оплодотво-

рении. Генетическая оценка должна рассматриваться как часть обследования данных пациентов. Своевременное выявление хромосомных аномалий у лиц, планирующих экстракорпоральное оплодотворение, и анализ прогноза для потомства в таких случаях позволит подобрать оптимальный метод решения проблемы бесплодия. В ряде случаев может быть рекомендовано участие доноров или обязательная предимплантационная диагностика или пренатальная диагностика при наступлении беременности.

ПОКАЗАНИЯ К ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОМУ ОБСЛЕДОВАНИЮ ПРИ НАРУШЕНИЯХ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

1. Нарушение половой дифференцировки или аномалии полового развития, аномальные гениталии.
2. Первичная или вторичная аменорея.
3. Аномалии спермограммы – азооспермия или тяжелая олигоспермия.
4. Бесплодие неясной этиологии.
5. Привычное невынашивание или повторные неудачи ЭКО.
6. Наличие ранней менопаузы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пациенты могут годами обследоваться и лечиться по поводу бесплодия или невынашивания беременности, не подозревая, что главной причиной нарушений репродуктивной функции являются наследственные факторы. Попытки лечения бесплодия у таких пациентов любыми методами, включая методы ВРТ, оказываются безуспешными. Поэтому в стандарты обследования при нарушениях репродуктивной функции должно быть включено генетическое обследование супружеской пары (медико-генетическое консультирование и методы лабораторной генетики).

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная

Наследственные болезни : национальное руководство / гл. ред. Н. П. Бочков, Е. К. Гинтер, В. П. Пузырев. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 998 с.

Спейчер, М. Р. Генетика человека по Фогелю и Мотулски. Проблемы и подходы / М. Р. Спейчер, С. Е. Антонаракис, А. Г. Мотулски. – ООО «Издательство Н-Л», 2014. – 1056 с.

Горбунова, В. Н. Клиническая генетика / В.Н. Горбунова [и др.]. – СПб. : Фолиант, 2015. – 400 с.

Дополнительная

Бочков, Н. П. Клиническая генетика / Н. П. Бочков, В. П. Пузырев, С. А. Смирнихина. – М. : ГЭОТАР-Медиа. – М., 2011. – 592 с.

Баранов, В. С. Цитогенетика эмбрионального развития человека / В. С. Баранов, Т. В. Кузнецова. – СПб. : Научная литература, 2006. – 520 с.

Козлова, С. И. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование: атлас-справочник / С. И. Козлова, Н. С. Демикова. – М. : Т-во научных знаний КМК; Авторская академия, 2007. – 448 с.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

ВЫБЕРИТЕ ПРАВИЛЬНЫЙ ОТВЕТ

1. ДЛЯ СИНДРОМА ДИСОМИИ Y ХАРАКТЕРНЫ
 - а) азооспермия
 - б) гинекомастия
 - в) евнухоидное телосложение
 - г) увеличение частоты анеуплоидных сперматозоидов
2. ПРИ ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ НЕОБХОДИМО
 - а) цитогенетическое обследование супружеской пары
 - б) тестирование на носительство мутаций в гене SRY
 - в) тестирование на носительство мутаций в локусе AZF
 - г) тестирование на носительство мутаций в гене AR
3. У НОСИТЕЛЕЙ ГОМОЛОГИЧНОЙ РОБЕРТСОНОВСКОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ НЕВОЗМОЖНО
 - а) привычное невынашивание беременности
 - б) повторное рождение детей с хромосомными болезнями
 - в) формирование только анеуплоидных гамет
 - г) рождение здоровых детей без использования методов ВТР

ВЫБЕРИТЕ ВСЕ ПРАВИЛЬНЫЕ ОТВЕТЫ

4. ДЛЯ СИНДРОМА ШЕРЕШЕВСКОГО–ТЕРНЕРА ХАРАКТЕРНЫ
 - а) истинная дисгенезия гонад
 - б) истинный гермафродитизм
 - в) мутации в гене AR
 - г) кариотип 45,X
5. ДЛЯ СИНДРОМА СВАЙЕРА ХАРАКТЕРНЫ
 - а) смешанная дисгенезия гонад
 - б) истинный гермафродитизм
 - в) кариотип 45,X
 - г) мутации в гене SRY
6. ДЛЯ СИНДРОМА ПОЛНОЙ ТСТИКУЛЯРНОЙ ФЕМИНИЗАЦИИ ХАРАКТЕРНЫ
 - а) наличие женского фенотипа
 - б) наличие мужского фенотипа
 - в) истинный гермафродитизм
 - г) кариотип 46,XY

7. ДЛЯ НЕМОЗАИЧНОЙ ФОРМЫ СИНДРОМА КЛАЙНФЕЛЬТЕРА ХАРАКТЕРНЫ
- а) азооспермия
 - б) гинекомастия
 - в) евнухоидное телосложение
 - г) макроорхидизм
8. ПРИ СИНДРОМЕ ТРИСОМИИ X
- а) присутствует облигатное бесплодие
 - б) возможно преждевременное истощение яичников
 - в) встречаются семейные формы
 - г) характерна первичная аменорея
9. ДЛЯ СИНДРОМА ДЕ ЛЯ ШАПЕЛЯ ХАРАКТЕРНЫ
- а) реверсия пола у женщин
 - б) реверсия пола у мужчин
 - в) мутации в гене AR
 - г) мутации в гене SR \bar{Y}
10. ФАКТОРОМ РИСКА ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ЯВЛЯЮТСЯ
- а) носительство одним из родителей сбалансированной хромосомной перестройки
 - б) носительство одним из родителей полиморфных вариантов прицентромерного гетерохроматина
 - в) наличие мутаций AZFa у отца
 - г) синдром тестикулярный феминизации у матери

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

- | | | |
|---------|------------|----------|
| 1: г | 5: а, г | 8: б, в |
| 2: а | 6: а, г | 9: б, г |
| 3: г | 7: а, б, в | 10: а, б |
| 4: а, г | | |

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Задача 1. Мужчина, 35 лет, анамнез – бесплодие 8 лет, спермограмма – тяжелая форма олигозооспермии (значительное снижение количества сперматозоидов в семенной жидкости (менее 3 млн). Семейная пара обратилась в клинику ЭКО. Для проведения цикла ЭКО необходимо исключить генетические факторы мужского бесплодия.

Какие лабораторные генетические тесты могут быть предложены этому мужчине?

Ответ.

Необходимо провести: кариотипирование для исключения количественных (синдром Клайнфельтера, синдром 47,XYУ) и структурных (носительство сбалансированных реципрокных или Робертсоновских транслокаций, инверсий) аномалий хромосом; микроделеционный анализ локуса AZF (a, b и c), локализованного в длинном плече Y-хромосомы, где находятся гены, ответственные за нормальный сперматогенез; молекулярно-генетический анализ мутаций в гене CFTR (муковисцидоза), которые могут быть причиной врожденной аплазии семявыносящих протоков.

Задача 2. Для проведения ЭКО обратилась супружеская пара с мужским фактором бесплодия. Мужчина, 32 года, анамнез – бесплодие 5 лет, спермограмма – тяжелая форма олигозооспермии (концентрация сперматозоидов в семенной жидкости 1,5 млн/мл). Были проведены лабораторные генетические исследования для исключения генетических факторов мужского бесплодия. Получены следующие результаты: кариотип 46,XY,Yqh+, выявлена делеция в локусе AZFc (sY254, sY255), мутаций в гене CFTR не выявлено.

Прокомментируйте полученные результаты. Какие рекомендации можно дать при решении?

Ответ.

Кариотип мужской нормальный, увеличение гетерохроматинного района Y-хромосомы – вариант нормы. Выявлена генетическая причина тяжелой формы олигозооспермии, что привело к многолетнему бесплодию. Можно предложить проведение в цикле ЭКО преимплантационной генетической диагностики с целью определения пола эмбриона по медицинским показаниям, так как все эмбрионы мужского

пола унаследуют Y-хромосому отца с генетической патологией (делеция в локусе AZFc), а все эмбрионы женского пола будут здоровы.

Задача 3. При исследовании материала, полученного от замершей беременности первого триместра у женщины 37 лет. Результат цитогенетического анализа клеток ворсин хориона: 46,XX,+13,rob(13;14)(q10;q10).

Какие дальнейшие рекомендации вы можете дать этой женщине?

Ответ.

В абортном материале выявлена транслокационная форма синдрома Патау – трисомии по хромосоме 13. Необходимо провести кариотипирование родителей. При обнаружении сбалансированной Робертсоновской транслокации между хромосомами 13 и 14 у одного из родителей этой паре показана пренатальная инвазивная диагностика для исключения несбалансированного хромосомного набора у плода (транслокационная форма синдрома Патау – трисомии по хромосоме 13 или транслокационной формы трисомии по хромосоме 14 – прерывание беременности в первом триместре). Как вариант выбора может быть предложена преимплантационная диагностика для снижения риска прерывания беременности или рождения ребенка с несбалансированной перестройкой.

Задача 4. Супружеская пара. Возраст – 27 лет супруге, 32 года супругу. В анамнезе – бесплодие в браке 7 лет, 3 неудачные попытки ЭКО. Кариотипирование: 46,XX,1qh+ и 46,XY,16qh+.

Показана ли данной паре преимплантационная генетическая диагностика (выявление аномалий по всем хромосомам) по результатам кариотипирования.

Ответ.

Нет, не показана. У супругов выявлено увеличение гетерохроматиновых районов хромосом 1 и 16, что является полиморфизмом – вариантом нормального кариотипа.

Задача 5. Женщина 23 лет, 1-я беременность, замершая беременность на сроке 7–8 нед. Кариотип ворсин хориона – 46,XY,der(3),t(3;8)(p25;q12). Было проведено кариотипирование родителей. Кариотип женщины 46,XX, кариотип мужчины 46,XY,t(3;8)(p25;q12). Пара планирует в будущем рождение детей.

Каковы современные возможности лабораторной генетики помочь этой паре родить здорового ребенка?

Ответ.

Данной семье можно рекомендовать: 1) беременность естественным путем с проведением пренатальной инвазивной диагностики в I триместре беременности (10–11 нед) – цитогенетический анализ полученного материала из ворсин хориона. Кариотипирование позволяет выявить не только несбалансированные варианты, но и различить сбалансированную реципрокную транслокацию, унаследованную от отца, и нормальный кариотип; 2) беременность путем экстракорпорального оплодотворения с преимплантационной генетической диагностикой. Данный подход позволяет избежать подсадки и имплантации эмбриона с несбалансированным кариотипом, что впоследствии может привести к замиранию беременности и последующему спонтанному выкидышу.

Задача 6. Результат цитогенетического анализа клеток материала замершей беременности: 45,XY,rob(14;22)(q10;q10)pat.

Проведено кариотипирование родителей.

Какой кариотип выявлен у родителей? Дальнейшие рекомендации по планированию семьи у данной супружеской пары.

Ответ.

Плод: пол мужской, робертсоновская транслокация между хромосомами 14 и 22, унаследованная от отца. Кариотип отца 45,XY,rob(14;22)(q10;q10). Кариотип матери 46,XX. Данной семье можно рекомендовать: 1) беременность естественным путем с проведением пренатальной инвазивной диагностики в I триместре беременности (10–11 нед) – цитогенетический анализ полученного материала из ворсин хориона. Кариотипирование дает возможность выявить не только несбалансированные варианты, но и различить сбалансированную реципрокную транслокацию, унаследованную от отца, и нормальный кариотип; 2) беременность путем экстракорпорального оплодотворения с преимплантационной генетической диагностикой. Данный подход позволяет избежать подсадки и имплантации эмбриона с несбалансированным кариотипом, что впоследствии может привести к замиранию беременности и последующему спонтанному выкидышу.

Задача 7. Женщина 34 лет, в анамнезе 3 спонтанных прерывания беременности в первом триместре. Кариотип 46,XX,t(8;17)(q24.3;q21.1).

Прокомментируйте причину невынашивания беременности. Дальнейшие рекомендации по планированию семьи.

Ответ.

Причиной невынашивания беременности является наличие у эмбрионов несбалансированной хромосомной перестройки. Для исключения повтора случаев потери беременности можно рекомендовать преимплантационную диагностику и подсадку эмбрионов со сбалансированным кариотипом.

Задача 8. В медико-генетический центр обратилась женщина 23 лет. Рост 168 см, правильного телосложения, гинекологический статус в норме, менструации с 13 лет, регулярные. У матери двое родов, в 18 и 25 лет. Менопауза с 38 лет. У старшей сестры пробанда до 29 лет цикл регулярный, в последний год начались нарушения менструального цикла по типу вторичной аменореи. Детей у сестры нет (не планировала). Мать и сестра у генетика не обследованы.

Какие обследования могут быть проведены для подтверждения/исключения наследственной причины и возможности возникновения нарушений цикла и проблем с репродукцией у пробанда. Рекомендации в зависимости от результатов обследования.

Ответ.

Возможно кариотипирование пробанда. При выявлении кариотипа 47,XXX или структурных аномалий X-хромосомы рекомендовано по возможности не откладывать рождение детей. Можно рекомендовать кариотипирование матери и сестры. При нормальном кариотипе можно рекомендовать молекулярную диагностику.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Общие вопросы	4
Нарушения репродуктивной функции	6
Генетические аномалии при репродуктивных нарушениях у женщин	6
Генетические аномалии при репродуктивных нарушениях у мужчин	16
Генетические причины невынашивания беременности	24
Невынашивание беременности как механизм отбора против генетически неполноценных эмбрионов	24
Роль сбалансированных хромосомных перестроек в невынашивании беременности	27
Другие хромосомные изменения при нарушениях репродукции	37
Применение цитогенетического анализа при использовании вспомогательных репродуктивных технологий	38
Показания к цитогенетическому обследованию при нарушениях репродуктивной функции	40
Заключение	40
Рекомендуемая литература	41
Тестовые задания	42
Ответы на тестовые задания	43
Ситуационные задачи	44

Т. В. Харченко

Генетические причины нарушений репродуктивной функции

Учебное пособие

Редактор *М. С. Башун*

Технический редактор *Г. С. Гайворонская*

Подписано в печать 05.10.2017. Формат 60×84¹/₁₆.

Гарнитура «таймс». Усл. печ. 3 л.

Тираж 100 экз. Заказ № 411

Санкт-Петербург, издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова
191015, Санкт-Петербург, Кирочная ул., д. 41
Отпечатано в типографии СЗГМУ им. И. И. Мечникова
191015, Санкт-Петербург, Кирочная ул., д. 41