Российский вестник акушера-гинеколога
2023, Т. 23, №5, с. 19-24
https://doi.org/10.17116/rosakush20232305119

Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist
2023, vol. 23, №5, pp. 19-24
https://doi.org/10.17116/rosakush20232305119

Генетические особенности пациенток с бесплодием неясного генеза

© Л.С. ЛОГУТОВА, К.В. КРАСНОПОЛЬСКАЯ, Е.Ю. ВОСКОБОЕВА, А.В. ЛЯХОВ

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Минздрава Московской области, Москва, Россия

Цель исследования. Уточнение наличия генетической природы бесплодия неясного генеза у пациенток с повторными неудачами при проведении циклов экстракорпорального оплодотворения.
Материал и методы. В исследовании участвовали 34 пациентки с первичным бесплодием неясного генеза в возрасте до 35 лет и 50 пациенток контрольной группы той же возрастной категории со вторичным бесплодием. Было проведено секвенирование нативной ДНК, выделенной из фракции лимфоцитов венозной крови пациенток обеих групп.
Результаты. Выявлены существенные генетические особенности у 56% пациенток с бесплодием неясного генеза, представленные транзициями и микроделециями в генах, преимущественно (79%) принадлежащих группам OOMD и PREMBL: *PANX1*, *PATL2*, *TUBB8*, *ZP1*, *TLE6*, *NLRP2*, *NLRP5* и *PADI6*.
Заключение. Полученные данные свидетельствуют в пользу точки зрения о большом значении генетического фактора и особенностей генов, входящих в группы OOMD и PREMBL, в развитии бесплодия и низкой эффективности применения вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием неясного генеза. Однако малочисленность обследуемой группы женщин диктует необходимость уточнения клинической значимости отдельных точечных мутаций генов, а также продолжения исследования.

Ключевые слова: *бесплодие неясного генеза, экстракорпоральное оплодотворение, репродуктивная генетика, гены групп OOMD и PREMBL.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:
Логутова Л.С. — https://orcid.org/0000-0002-6313-655X
Краснопольская К.В. — https://orcid.org\0000-0002-12759220
Воскобоева Е.Ю. — https://orcid.org\0000-0002-1713-5118
Ляхов А.В. — https://orcid.org/0000-0002-0008-2670
Автор, ответственный за переписку: Ляхов А.В. — e-mail: jerek993@gmail.com

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Логутова Л.С., Краснопольская К.В., Воскобоева Е.Ю., Ляхов А.В. Генетические особенности пациенток с бесплодием неясного генеза. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2023;23(5):19–24. https://doi.org/10.17116/rosakush20232305119

Genetic features of patients with infertility of unclear genesis

© L.S. LOGUTOVA, K.V. KRASNOPOL'SKAYA, E.YU. VOSKOBOEVA, A.V. LYAKHOV

Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Moscow, Russia

Objective. To clarify the presence of genetic nature of infertility of unclear genesis in female patients with repeated failures during in vitro fertilization cycles.
Material and methods. The study involved 34 patients with primary infertility of unclear genesis aged up to 35 years and 50 control patients of the same age group with secondary infertility. Sequencing of native DNA isolated from the lymphocyte fraction of venous blood of the patients of both groups was performed.
Results. Significant genetic features were revealed in 56% of patients with infertility of unclear genesis, represented by transitions and microdeletions in genes, predominantly (79%) belonging to OOMD and PREMBL groups: PANX1, PATL2, TUBB8, ZP1, TLE6, NLRP2, NLRP5 and PADI6.
Conclusion. The obtained data support the viewpoint about the great importance of the genetic factor and features of genes included in the OOMD and PREMBL groups in the development of infertility and low efficiency of assisted reproductive technologies in patients with infertility of unclear genesis. However, the small number of the studied group of women dictates the need to clarify the clinical significance of individual point mutations of genes, as well as to continue the study.

Keywords: *infertility of unclear genesis, in vitro fertilization, reproductive genetics, genes of OOMD and PREMBL groups.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Logutova L.S. — https://orcid.org/0000-0002-6313-655X
Krasnopol'skaya K.V. — https://orcid.org\0000-0002-12759220
Voskoboeva E.Yu. — https://orcid.org\0000-0002-1713-5118
Lyakhov A.V. — https://orcid.org/0000-0002-0008-2670
Corresponding author: Lyakhov A.V. — e-mail: jerek993@gmail.com

TO CITE THIS ARTICLE:
Logutova LS, Krasnopol'skaya KV, Voskoboeva EYu, Lyakhov AV. Genetic features of patients with infertility of unclear genesis. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist = Rossiiskii vestnik akushera-ginekologa*. 2023;23(5):19–24. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/rosakush20232305119

Введение

Результаты многочисленных эпидемиологических исследований свидетельствуют, что довольно значительное число супружеских пар, желающих рождения ребенка, сталкиваются с диагнозом «бесплодие», причины которого не удается установить, т.е. с бесплодием неясного генеза (БНГ) [1—3]. В то же время терапевтические возможности купировать инфертильность у таких пациенток чрезвычайно ограничены: максимальная частота наступления беременности при использовании методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) составляет 11—22%, что значительно уступает результатам, получаемым при других типах бесплодия, причины которых установлены [3—6]. В связи с этим для возможного повышения эффективности лечения БНГ представляется разумным проводить исследования по поиску этиологических факторов этого состояния, среди которых молекулярно-генетические механизмы регуляции репродуктивной функции, по экспертным оценкам, признаны наиболее перспективными [7, 8]. Исходя из изложенного целью настоящей работы является уточнение наличия генетической природы БНГ у пациенток с повторными неудачами при проведении циклов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ).

Материал и методы

Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good clinic practice) и принципами Хельсинкской Декларации. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» (МОНИИАГ). У всех женщин получено добровольное информированное письменное согласие на участие.

В настоящем исследовании на основе изучения медицинских карт больных, обратившихся за помощью в ГБУЗ МО МОНИИАГ, использованы данные ретроспективного анализа клинико-диагностических показателей 945 пациенток с очевидными причинами инфертильности и 87 пациенток с установленным после неоднократных и расширенных обследований БНГ.

По итогам этого анализа в контрольную группу из общей группы женщин с установленными причинами бесплодия были выбраны 50 пациенток в возрасте 35 лет и моложе со вторичным бесплодием, обследуемую группу составили 34 пациентки того же возраста с первичным БНГ, имеющие в анамнезе неоднократные неудачные попытки при проведении циклов ЭКО, которые сопровождались отсутствием у этих пациенток эмбрионов, пригодных для переноса в матку.

Основным критерием исключения из контрольной группы служило малейшее предположение о возможности значительного вклада генетических факторов в клиническую картину бесплодия. Таким образом, контрольную группу составили пациентки, страдающие вторичным бесплодием, с окклюзией маточных труб, после операций по поводу гидро- и сактосальпинкса, спаечного процесса в малом тазу и т.д., имеющие (имевшие) детей без генетических нарушений.

Исключение пациенток из группы исследования происходило, главным образом, на основании данных проведенной нами повторной лапароскопии, обнаружившей малейшие проявления эндометриоза или иные возможные причины бесплодия, связанные с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Критерием исключения также была вероятность сочетанного или кумулятивного действия других слабо выраженных, но снижающих доказательность данных исследования факторов.

Для молекулярно-генетического исследования использовали нативную ДНК пациенток, выделенную методом фенольной экстракции [9] из фракции лимфоцитов крови, взятой из локтевой вены. Анализ проб выполняли методом ионного полупроводникового секвенирования (секвенирования нового поколения) с использованием секвенатора Ion Proton Torrent, Thermo Fisher Scientific.

На основе данных исследования образцов генетического материала нами сформированы библиотеки с использованием чипа Ion Proton Torrent. На первом этапе работы получены результаты молекулярно-генетического исследования пациенток контрольной группы, которые использовались в качестве референсных значений в дальнейшем исследовании.

Для молекулярно-генетического исследования использована панель «Female infertility panel» GTR000592369.1, в которую входят 93 гена, ассоциированных с женским бесплодием. При этом особое внимание уделялось структуре промоторов и прилежащих к ним участков генов *ZP1*(11q12.2), *ZP2*(16p2.3-12.2), *ZP3*(7q11.23), *TLE6* (19p13.3), *PATL2*(15q21.1), *PAD16*(1p36.13), *WEE2*(7q34), *TUBB8*(10p15.3), *BMP15*(10p11.22), поскольку, по нашим представлениям, в случае появления существенных изменений в означенных участках этих генов было бы возможно установить функциональную связь между зафиксированными аномалиями и клиническими проявлениями у пациенток с БНГ. Это предположение опиралось на результаты нашего предшествующего анализа исходов программ ЭКО у пациенток обследуемой группы, а также на данные литературы [7, 8].

Для верификации полученных результатов повторно проведено секвенирование исследованных проб методом Ф. Сэнгера [10].

Результаты

Проведенный анализ данных, полученных в результате секвенирования, выявил клинически значимые генетические особенности у 19 из 34, т.е. у 56% пациенток с БНГ. У пациенток контрольной группы получены референсные значения. Эти генетические особенности преимущественно представлены точечными мутациями: транзициями (заменами азотистых оснований в нуклеотидной паре) или ми-

кроделециями (выпадением определенных участков гена размером 10—30 пар нуклеотидов).

Так, у 53% пациенток с выраженными генетическими особенностями, или у 29% от всей обследуемой группы с БНГ, обнаружены изменения структуры генов группы «дефекта созревания ооцитов» (OOMD).

У 26% пациенток с существенными генетическими особенностями, или у 15% пациенток всей группы БНГ, выявлены дефекты генов группы «предимплантационной эмбриональной летальности» (PREMBL).

Таким образом, суммарно 44% женщин с БНГ имеют клинически значимые дефекты генов групп OOMD и/или PREMBL. При этом внутри самой подгруппы пациенток с клинически значимыми генетическими особенностями суммарная доля женщин с дефектами генов групп OOMD/PREMBL достигает 79%, т.е. большинство.

Выраженные нарушения в генах, кодирующих сосудистые факторы, которые играют важную роль в процессе имплантации эмбриона (VEGF), зафиксированы у 21% пациенток, у которых выявились выраженные дефекты генов, регулирующих функционирование репродуктивной системы, и у 12% — из общей численности обследуемой группы.

В результате анализа данных секвенирования генов группы OOMD у пациенток с БНГ обнаружен целый ряд особенностей, среди которых можно выделить наличие транзиций и микроделеций в генах *PANX1* и *PATL2*, *TUBB8*, *ZP1*.

В группе генов PREMBL также выявлены микроделеции и транзиции в генах *TLE6*, *NLRP2* и *NLRP5*, кодирующих белки-регуляторы первых делений дробления оплодотворенной яйцеклетки, и в гене *PADI6*, который отвечает за формирование нервной трубки развивающегося эмбриона.

У остальных 15 пациенток с БНГ также зафиксировано наличие некоторых генетических особенностей. Однако для корректной интерпретации данных, полученных в ходе секвенирования, необходимо провести дополнительные исследования с целью установления значения отклонения от референсных величин и оценки возможного вклада этих генетических особенностей в патогенез бесплодия.

Обсуждение

Молекулярно-генетические особенности, лежащие в основе расстройств репродуктивной системы, в последнее время подвергаются особенно интенсивному изучению [7, 8]. Исследование генетических аспектов инфертильности и, в частности БНГ, может сыграть положительную роль в раскрытии фундаментальной природы и механизмов возникновения бесплодия.

Генетические особенности, часто приводящие к дисфункциям репродуктивной системы, включают аномалии на разных уровнях организации генома: от крупных дефектов хромосом до микроделеций и дупликаций, а также вариаций последовательности нуклеотидов в ДНК отдельных генов, контролирующих огромный ансамбль физиологических процессов, обеспечивающих функцию репродукции человека [11].

Предшествующий ретроспективный анализ результатов применения ВРТ у пациенток с БНГ и данные молекулярно-генетических исследований, представленные в настоящей работе, позволяют предположить, что нарушения репродуктивной функции у пациенток с БНГ могут происходить на самых различных ключевых стадиях развития, созревания и оплодотворения ооцитов, а также раннего эмбриогенеза, как на клеточном, так и на субклеточном уровнях организации.

Среди выявленных генетических дефектов преобладали гены двух групп, непосредственно связанные с ранним эмбриогенезом: группы OOMD («дефекта созревания ооцитов») и группы PREMBL («преимплантационной эмбриональной летальности»).

Приведенные выше аномалии могут быть жестко детерминированными дефектами генов, связанными между собой в виде каскада, и проявляться одновременно или последовательно как в комплексе, так и раздельно на любом из обозначенных этапов, представляя собой относительно автономные проблемы и имея более или менее независимые причины [7, 8, 11].

Представленные данные молекулярно-генетического анализа и их трактовка не противоречат результатам, полученным другими авторами, изучавшими исходы программ ЭКО у пациенток при различных типах бесплодия, и показавших, что максимальную долю женщин с нарушениями раннего эмбриогенеза (отсутствием пригодных для переноса в матку эмбрионов вследствие блока развития бластоцист) составляли именно пациентки с БНГ, и эта величина достигала 32% против 16, 18, и 10% при трубно-перитонеальном, эндокринном и сочетанном типах бесплодия соответственно. При бесплодии, обусловленном эндометриоидными кистами яичников, этот показатель также был значительно ниже и составлял 14% [12].

Напротив, пациенток с БНГ, имевших удовлетворительные показатели раннего эмбриогенеза, в общей группе женщин с разными типами бесплодия было немного — всего 6,7% [12].

Обнаруженные генетические особенности у пациенток с БНГ убедительно свидетельствуют, что у этих женщин повторные неудачи при проведении программ ЭКО в большой мере связаны с генетически обусловленными нарушениями раннего эмбриогенеза, отсутствием оплодотворения ооцитов или наличием фатальных аномалий на этапе оплодотворения. Это позволяет предположить и существенное влияние выявленных генетических дефектов на качество яйцеклеток, а значит и на их репродуктивный потенциал [13—20].

Эта точка зрения опирается на выявленный нами факт, что абсолютное большинство структурных изменений представлено точечными мутациями в генах, относящихся к группе OOMD, в частности, клинически значимыми дефектами в генах *PANX1* и *PATL2* [13, 14].

Группа OOMD включает различные гены: среди них имеются как мейоз-специфичные, так и неспецифичные, объединенные в соответствии с патологией, развивающейся при их дефектах. Многие из объединенных в эту группу генов полифункциональны, так как являются генами — регуляторами и кофакторами транскрипционных процессов, однако встречаются и гены, напрямую кодирующие структурные элементы, которые играют важнейшую роль в созревании ооцитов [7, 8, 13—20].

Так, блестящая оболочка (zona pellucida) — одна из важнейших структур яйцеклетки, состоящая из внеклеточного матрикса, преимущественно полисахаридной природы, включает особые гликопротеиды — ZP1, ZP2, ZP3 и ZP4, которые кодируются одноименными генами группы OOMD [11, 17, 18, 21—24]. Гликопротеиды ZP1, ZP2, ZP3 и ZP4 играют ведущую роль в процессе оплодотворения: участвуют в связывании сперматозоида с ооци-

том [11, 17] и установлении видовой специфичности оплодотворения [17, 18], предотвращают полиспермию [22]. В норме в составе блестящей оболочки эти гликопротеиды участвуют в поддержании последующего развития бластоцисты и препятствуют преждевременной имплантации эмбриона [17—19, 21—24].

Вариации нуклеотидных последовательностей в генах, ответственных за нормальное функционирование блестящей оболочки ооцитов, могут служить причиной возникновения ее дефектов и нарушения функционирования [17, 18]. Так, показано, что у женщин с гетерозиготным носительством *ZP1*, *ZP2*, *ZP3* наблюдается дисфункция zonae pellucidae, выражающаяся в нарушении взаимодействий развивающейся яйцеклетки с клетками гранулезы, следствием чего является дегенерация ооцита до наступления овуляции [25, 26]. Даже при успешном получении такого ооцита в программе ЭКО/ИКСИ у пациенток данной категории обнаруживается дегенерация или полное отсутствие блестящей оболочки [25, 26].

В норме для оплодотворения яйцеклетки в сперматозоиде происходит процесс капацитации, заключающийся в специфических структурных и молекулярных изменениях акросомы [11, 17, 18]. Однако до сих пор остается неизвестным, какие специфические женские факторы могут влиять на процесс капацитации или способность сперматозоида распознавать кумулюсные клетки, проходя через corona radiata (лучистый венец) в направлении zonae pellucidae, связываться с ее поверхностью и обеспечивать пенетрацию. В то же время исследования свидетельствуют, что аномальные особенности генов материнского организма, ответственных за эти процессы, могут приводить к снижению шансов естественного оплодотворения [7, 8, 11, 26].

Еще один структурный ген группы OOMD, при этом одновременно занимающий ключевую позицию в процессе мейоза, — ген *TUBB8* [7, 8, 15, 16]. Ген *TUBB8*, кодирует одну из субъединиц белка тубулина (β-тубулин), который является основным компонентом микротрубочек и необходим для сборки веретена деления и формирования метафазной пластинки в важнейшие моменты созревания ооцита.

В ооцитах пациенток — носителей патологических вариантов этого гена, веретено деления или организовано аномально, или дезорганизовано, или не собирается вовсе. В этих ситуациях обычно отделение полярного тельца не происходит. Однако описаны немногочисленные наблюдения, когда все же первое полярное тельце отделяется, хотя эмбрионы при оплодотворении такой яйцеклетки не развиваются дальше стадии 4—8 бластомеров [15, 16].

Как отмечено ранее, в группе OOMD одно из центральных мест занимают мейоз-специфичные гены. К таким генам относятся *PANX1* и *PATL2*, кодирующие белки, которые участвуют в снятии блока 1-го (редукционного) деления мейоза (M1), ответственейшего и очень уязвимого этапа созревания ооцита [13, 14].

Показано, что ген *PATL2* максимально экспрессируется в герминативном пузырьке (GV) и полярном тельце (M1) [14]. Он кодирует РНК-связывающий белок — репрессор трансляции [13]. У женщин с первичным бесплодием зафиксировано одновременное наличие патологических вариантов гена *PATL2* и блокирование созревания яйцеклетки на стадии GV. С высокой степенью вероятности дефекты гена *PATL2* вносят вклад в потерю ооцитом репродуктивного потенциала, нарушая синтез белка, однако его специфическая роль в созревании ооцитов нуждается в уточнении [13].

Ген *WEE2* экспрессируется исключительно в ооцитах, причем его экспрессия нарастает в процессе фолликуло-ооогенеза, достигая максимума к моменту овуляции [27]. Действие этого гена локализовано в строго определенных компартментах ооцитов, что обеспечивает эффективный контроль цепи процессов мейоза [28]. Имеются убедительные доказательства, что у животных разных групп этот ген вовлечен в обеспечение важнейших процессов, таких как поддержание состояния покоя на стадии GV — завершения метафазы первого деления мейоза (M1), формирование пронуклеусов [28, 29].

Поскольку в клинической практике ЭКО/ИКСИ документировано огромное число случаев многократно повторяемых попыток, в которых не удавалось провести оплодотворение с получением полноценной зиготы [11, 29], в исследованиях, выполненных в последние годы, предпринимались попытки выявления полиморфизмов гена *WEE2*, ответственных за указанные аномалии у человека [27].

Так, получены данные о гомозиготных мутациях этого гена, приводящих к блоку оплодотворения яйцеклеток у женщин, страдающих бесплодием [27]. Показано, что ооциты пациенток с патогенными вариантами *WEE2* не способны к оплодотворению, так как дефекты этого гена обусловливают неспособность яйцеклетки завершить выход из метафазы второго (эквационного) деления мейоза (M11) и образовать второе полярное тельце (PB2) [11].

Многие эмбриональные гены вовлечены в процесс эмбриогенеза уже на ранних стадиях дробления (4—8 бластомеров) и участвуют в ремоделировании хроматина и регуляции эпигенетического репрограммирования, а также задают вектор будущей специализации клеток. Часть таких генов идентифицирована совсем недавно, благодаря использованию полноэкзомного секвенирования ДНК пациенток с соответствующими фенотипическими проявлениями и подробно документированными клиническими данными [7, 8, 13, 14].

Так, биаллельные дефекты генов *PATL2* [13, 14], *TLEG6* [28], *NLRP2*, *NLRP5* [29] и *WEE2* [27], а также гетеро- и гомозиготные аномальные варианты *TUBB8* [15, 16] оказались ответственными за целый спектр процессов, обусловливающих раннюю эмбриональную летальность и включающих блоки созревания и оплодотворения яйцеклетки, блок развития эмбриона на стадии дробления, блок имплантации [15].

Обнаруженные варианты нуклеотидных последовательностей материнских генов *TLEG6* и/или *NLRP2*, *NLRP5*, специфичные для субкортикального материнского комплекса ооцитов млекопитающих, связывают с блоком развития эмбриона на 3-й день и блоком формирования бластоцисты [28, 29].

Указанные процессы служат мишенями (находятся в фокусе) для глубокого изучения и осмысления клеточных и молекулярных механизмов нарушения фертильности [7] с целью дальнейшего совершенствования подходов к разработке рациональной тактики ведения «сложных» пациенток и оказания им помощи в преодолении бесплодия [7, 8].

Заключение

Для однозначного ответа на вопрос о ведущей роли структурных аномалий определенных генов в нарушениях фертильности у пациенток с БНГ объективных данных, представленных в настоящей работе, недостаточно в связи с малочисленностью обследуемой группы. Однако аргументированные предположения о генетической природе БНГ у большинства таких женщин вполне обоснованы.

В заключение следует отметить, что результаты нашего исследования молекулярно-генетических особенностей пациенток с БНГ полностью согласуются с данными других авторов [8, 12—16, 28, 29] и свидетельствуют в пользу точки зрения о значительном вкладе особенностей генов, входящих в группы OOMD и PREMBL, в развитие бесплодия у этих женщин, и что эти генетические особенности могут в значительной мере обусловливать неудачи в лечебных программах ЭКО/ИКСИ. Исследования в этой области, несомненно, нуждаются в продолжении.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Л.С. Логутова, К.В. Краснопольская, А.В. Ляхов, Е.Ю. Воскобоева
Сбор и обработка материала — А.В. Ляхов
Статистическая обработка — А.В. Ляхов
Написание текста — Е.Ю. Воскобоева, А.В. Ляхов
Редактирование — Е.Ю. Воскобоева, Л.С. Логутова

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Приведенные нами данные и многочисленные источники литературы [7, 8, 11—16, 28, 29] убедительно указывают на участие в реализации репродуктивной функции множества генов, контролирующих согласованность процессов оо- и эмбриогенеза, и на особую роль отмеченных нами генов групп OOMD и PREMBL в ключевых процессах созревания, оплодотворения и последующей предимплантационной судьбе эмбриона, от которых в значительной степени зависят и результат лечения бесплодия, и здоровье последующих поколений.

Participation of the authors:

Concept and design of the study — L.S. Logutova, K.V. Krasnopol'skaya, A.V. Lyakhov, E.Yu. Voskoboeva
Data collection and processing — A.V. Lyakhov
Statistical processing of the data — A.V. Lyakhov
Text writing — E.Yu. Voskoboeva, A.V. Lyakhov
Editing — E.Yu. Voskoboeva, L.S. Logutova

Authors declare lack of the conflicts of interests.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Антонова О.С., Корнева Н.А., Белов Ю.В., Курочкин В.Е. Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии. *Научное приборостроение*. 2010;20:1:3-9.
Antonova OS, Korneva NA, Belov YuV, Kurochkin VE. Methods of nucleic acids purification and separation in molecular biology. *Nauchnoe priborostroenie*. 2010;20:1:3-9. (In Russ.).
2. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. *Цитогенетика эмбрионального развития человека*. СПб.: ЭКО-Вектор; 2007;639.
Baranov VS, Kuznetsova TV. *Cytogenetics of human embryological development. S*aint Petersburg: Eko-Vektor. 2007;639. (In Russ).
3. Назаренко Т.А., Краснопольская К.В., Сесина Н.И., Санакоева А.В., Куликова О.Р., Бедник Д.Ю. Клинические характеристики пациенток с нарушениями показателей раннего эмбриогенеза в программах ЭКО. *Проблемы репродукции*. 2019;25:2:60-66.
Nazarenko TA, Krasnopol'skaya KV, Sesina NI, Sanakoeva AV, Kulikova OR, Bednik DYu. Clinical characteristics of patients with violation of the early embryogenesis in IVF programs. *Problemy reproduktsii*. 2019;25:2:60-66. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/repro20192502160
4. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evidence-based treatments for couples with unexplained infertility: a guideline. *Fertil Steril*. 2020;113:2:305-322.
https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.10.014
5. Homburg D, Rabau E. An evaluation of etiologic factors and therapy in 665 infertile couples. *Fertil Steril*. 1977;28:718-722.
https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)42671-3
6. Wang R, Danhof N, Tjon-Kon R, Jc Eijkemans M, Mm Bossuyt P, Mochtar M, van der Veen R, Bhattacharya S, Willem J Mol B, van Wely M. Interventions for unexplained infertility: a systematic review and network meta-analysis. *Cochrane Database Rev.* 2019;9:CD012692
https://doi.org/10.1002/14651858.CD012692.pub2
7. Здановский В.М., Краснопольская К.В., Ляхов А.В., Воскобоева Е.Ю. Вспомогательные репродуктивные технологии, некоторые клинико-эмбриологические и генетические аспекты женского бесплодия неясного генеза. *Проблемы репродукции*. 2022;28:2:59-67.
Zdanovskii VM, Krasnopol'skaya KV, Lyakhov AV, Voskoboeva EYu. Unexplained female infertility and ART: clinic, embryology, genetic items. *Problemy reproduktstii*. 2022;28:2:59-67. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/repro20222802159
8. Yatsenko S, Rajkovic A. Genetics of human female infertility. *Biol Reprod*. 2019;0:0:1-18.
https://doi.org/10.1093/biolre/ioz084
9. Capalbo A, Maurizio P, Riera-Escamila A, Shukla V, Kudo Høffding M, Krausz C, Hoffmann E, Simon C. Preconception genome medicine: current state and future perspectives to improve infertility diagnosis and reproductive health outcomes based on individual genomic data. *Hum Reprod Update*. 2020;11:1-26.
https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa044
10. Sanger F, Niclein S, Coulson A. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1977;74:5463-5467.
https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463
11. Maddirevula S, Coskun S, Alhassan S, Elnour A, Alsaif HS, Ibrahim N, Abdulwahab F, Arold ST, Alkuraya FS. Female infertility caused by mutations in the oocyte-specific translational repressor PATL2. *Am J Hum Genet*. 2017;101:603-608.
https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.08.009
12. Huang L, Tong X, Wang F, Luo L, Jin R, Fu Y, Zhou G, Li D, Song G, Liu Y, Zhu F. Novel mutations in PATL2 cause female infertility with oocyte germinal vesicle arrest. *Hum Reprod*. 2018;33:1183-1190.
https://doi.org/10.1093/humrep/dey100
13. Feng R, Yan Z, Li B, Yu M, Sang Q. Mutations in TUBB8 cause a multiplicity of phenotypes in human oocytes and early embryos. *J Med Genet*. 2016;53:662-671.
https://doi.org/10.3390%2Fgenes11040382
14. Chen B, Li B, Li D, Jan Z, Mao X, Xu Y, Mu J, Li Q, Jin L, He L, Kuang Y, Sang Q, Wang L. Novel mutations and structural depletion in TUBB8: expanding mutational and phenotypic spectrum of patients with arrest in oocyte maturation, fertilization or early embryonic development. *Hum Reprod*. 2017;32:457-464.
https://doi.org/10.1093/humrep/dew322
15. Tosti E, Menezo Y. Gamete activation: basic knowledge and clinical applications. *Hum Reprod Update*. 2016;22:420-439.
https://doi.org/10.1093/humupd/dmw014

16. Gupta SK. The human egg's zona pellucida. *Curr Top Dev Biol*. 2018;130:379-411. https://doi.org/10.3390%2Fgenes12081266
17. Zhu K, Yan L, Zhang X, Lu X, Wang T, Yan J, Liu X, Qiao J, Li L. Identification of a human subcortical maternal complex. *Mol Hum Reprod*. 2015;21:320-329. https://doi.org/10.1093/molehr/gau116
18. Conti M, Franciosi F. Acquisition of oocyte competence to develop as an embryo: integrated nuclear and cytoplasmic events. *Hum Reprod Update*. 2018;24:245-266. https://doi.org/10.1093/humupd/dmx040
19. Liu W, Bai D, Chen J, Gao S. Additive-effect pattern of both ZP2 and Zp3 in human and mouse. *Hum Genet*. 2017;136:1493-1495. https://doi.org/10.1007/s00439-017-1848-x
20. Tokuhiro K, Dean J, Glycan-independent gamete recognition triggers egg zinc sparks and ZP2 cleavage to prevent polyspermy. *Dev Cell*. 2018;46:627-640. e5. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.07.020
21. Dai C, Hu L, Gong F, Tan Y, Cai S, Zhang S, Dai J, Lu C, Chen J, Chen Y, Lu G, Du J, Lin G. ZP2 pathogenic variants cause in vitro fertilization failure and female infertility. *Genet Med*. 2019;21:431-440. https://doi.org/10.1038/s41436-018-0064-y
22. Xu YR, Yang WX. Calcium influx and sperm-evoked calcium responses during oocyte maturation and egg activation. *Oncotarget*. 2017;8:89375. https://doi.org/10.18632/oncotarget.19679
23. Chen T, Bian Y, Liu X, Zhao S, Wu K, Yan L, Li M, Yang Z, Liu H, Zhao H, Chen Z. A recurrent missense mutation in ZP3 causes empty follicle syndrome and female infertility. *Am J Hum Genet*. 2017;101:459-465. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.08.001
24. Huang HL, Lv C, Zhao YC, Li W, He XM. Mutant ZP1 in familial infertility. *N Engl J Med*. 2014;370:1220-1226. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1308851
25. Shuai Zh, Tailai CH, Mengru Yu, Yuehong B, Yongzhi CA, Ning Y, Su S, Zhang J, Zhao S. Novel WEE2 gene variants identified in patients with fertilization failure and female infertility. *Fertil Steril*. 2019;111:519-526. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.11.018
26. Oh JS, Susor A, Conti M. Protein tyrosine kinase WEE 1B is essential for metaphase 2 exit in mouse oocytes. *Science*. 2015;332:462-465. https://doi.org/10.1126/science.1199211
27. Lee SH, Lee JH, Park YS, Yang KM, Lim CK. Comparison of clinical outcomes between in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in IVF-ICSI split insemination cycles. *Clin Exp Reprod Med*. 2017;44:96-104. https://doi.org/10.5653/cerm.2017.44.2.96
28. Alazami AM, Awad SM, Coskun S, Al-Hassan S, Hijazi H, Abdulwahab F, Poizat C, Alkuraya F. TLE6 mutation causes the earliest known human embryonic lethality. *Genome Biol*. 2015;16:240. https://doi.org/10.1186/s13059-015-0792-0
29. Mu J, Wang W, Chen B, Wu L, Li B, Mao X, Zhang Z, Fu J, Kuang Y, Sun X, Li Q, Jin L, He L, Sang Q, Wang L. Mutations in NLRP2 and NLRP5 couse female infertility characterized by early embryonic arrest. *J Med Genet*. 2019;56:471-480. https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105936

Поступила 11.04.2023
Received 11.04.2023
Принята к печати 15.05.2023
Accepted 15.05.2023