

УДК 577.24

Вспомогательные репродуктивные технологии и *de novo* мутации

Н. А. Аракелян^{1†}, Е. Василевская^{1†}, Е. И. Погаев^{1,2**}¹Центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», Краснодарский край, пгт. Сириус, 354340 Россия²Медицинская школа Чан Массачусетского университета, департамент психиатрии, Шрусбери, МА 01545 США

†Равный вклад.

*E-mail: arakelyan.na@talantiuspeh.ru, **e-mail: evivrecc@gmail.com

Поступила в редакцию 11.12.2024

Принята к печати 13.02.2025

DOI: 10.32607/actanaturae.27589

РЕФЕРАТ Недавние достижения в области вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) произвели революцию в репродукции человека, предоставив надежду миллионам пар, сталкивающимся с проблемами бесплодия. Тем не менее с ростом популярности этих методов возникли опасения относительно их потенциального воздействия на целостность генома потомства, зачатого с помощью ВРТ. Особенно важен вопрос о влиянии этих технологий на частоту *de novo* мутаций – генетических изменений, которые возникают спонтанно в зародышевой линии или в раннем эмбриогенезе и могут быть связаны с различными заболеваниями человека. Степень, в которой ВРТ может напрямую влиять на частоту *de novo* мутаций, остается предметом научных споров. В данном обзоре рассмотрены последние исследования, посвященные связи между ВРТ и частотой *de novo* мутаций, подчеркнута необходимость дальнейших исследований для выяснения клинической значимости этих мутаций и их долгосрочных последствий для здоровья потомства.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА вспомогательные репродуктивные технологии, *de novo* мутации, старение, возраст отца, возраст матери.

ВВЕДЕНИЕ

С момента рождения первого ребенка, зачатого с помощью экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) более 45 лет назад, эта технология превратилась в рутинную процедуру в медицинских центрах вспомогательной репродукции. В последние десятилетия распространенность бесплодия неуклонно возрастает, во многом это связано с тем, что все больше людей решают отложить рождение ребенка на более поздний возраст. Значительное количество таких пар в конечном итоге обращается к методам искусственного оплодотворения. По последним оценкам во всем мире благодаря вспомогательным репродуктивным технологиям (ВРТ) родилось свыше 10 млн младенцев. Кроме того, по приблизительным данным ежегодно проводится около 4 млн циклов ВРТ [1, 2].

К ВРТ относят все методы лечения бесплодия, предполагающие обработку *in vitro* ооцитов, спермы или эмбрионов человека с целью достижения беременности [3]. При этом во время процедур ВРТ гаметы и зиготы подвергаются воздействию ряда культурных сред и нефизиологических условий.

Хотя большинство младенцев, зачатых с помощью ВРТ, рождаются здоровыми, сохраняются опасения относительно безопасности этих технологий и потенциальных долгосрочных эффектов ВРТ на рост, развитие и общее состояние здоровья будущего поколения [4]. Спонтанно возникающие в зародышевой линии или на раннем этапе эмбрионального развития *de novo* мутации могут сказываться на генетических особенностях потомства, зачатого с помощью ВРТ, поэтому всестороннее понимание механизмов, лежащих в основе их возникновения и происхождения, имеет решающее значение для решения вопросов безопасности и эффективности ВРТ. Такие знания способствуют разработке стратегий, направленных на снижение рисков и улучшение процедур ВРТ, с целью минимизации потенциальных неблагоприятных последствий для генетической целостности и здоровья последующих поколений. Исследование взаимосвязи между ВРТ и *de novo* мутациями не только расширяет наше понимание основных молекулярных механизмов, но и подчеркивает важность принятия обоснованных решений относительно репродуктивных вмешательств [5, 6].

Учитывая широкое применение ВРТ и его потенциальное влияние на генетическую целостность, в настоящем обзоре рассмотрены актуальные исследования, посвященные взаимосвязи между ВРТ и *de novo* мутациями. Цель работы – предоставить информацию, необходимую для совершенствования клинической практики и дальнейших исследований в области репродуктивной генетики.

ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ РЕПРОДУКТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ (ВРТ)

Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) – это широкий спектр процедур, направленных на решение проблем бесплодия как у женщин, так и у мужчин. За последние годы использование этих технологий значительно возросло, что связано с увеличением числа пар, сталкивающихся с трудностями зачатия. Этот комплексный подход включает ряд сложных этапов, таких как стимуляция овуляции, подготовка ооцитов и сперматозоидов, манипуляции с гаметатами и эмбрионами, криоконсервация, культивирование *in vitro* и, в конечном итоге, перенос эмбриона. Степень вмешательства может существенно варьировать – от гормональной терапии пациентов до более сложных процедур *in vitro*. Рассматриваемые вмешательства охватывают широкий спектр методик, начиная с тонких манипуляций с гаметатами, таких как оплодотворение *in vitro* (ЭКО), и заканчивая более инвазивными процедурами, включая интрацитоплазматическую инъекцию сперматозоида (ИКСИ) и получение сперматозоидов из яичка в сочетании с ИКСИ (testicular sperm extraction in conjunction with intracytoplasmic sperm injection, TESE-ICSI). Кроме того, эти вмешательства предполагают прямое воздействие на эмбрионы, что может включать такие процедуры, как биопсия трофобластической оболочки (trophoblast biopsy, ТВ) или биопсия бластомеров (blastomere biopsy, ВВ). Эти критически важные этапы совпадают с ключевыми фазами развития, характеризующимися значительной эпигенетической перестройкой генома и повышенной уязвимостью к внешним факторам. Любое нарушение в этот период способно негативно сказаться на программе развития [7, 8]. Одним из основных факторов, повышающих риск, связанный с процедурой ИКСИ, является процесс отбора сперматозоидов. В отличие от классического ЭКО, при котором сперматозоиды самостоятельно проникают сквозь защитные оболочки яйцеклетки, ИКСИ обходит эти естественные механизмы отбора за счет ручного выбора и введения одного сперматозоида прямо в ооцит. Это может непреднамеренно приводить к оплодотворению сперматозоидами с аномалиями ДНК. Кроме того, при ИКСИ нередко

используют сперму, извлеченную непосредственно из яичка или придатка яичка (эпидидимиса), минуя ее естественное созревание, которое обычно происходит при прохождении через мужские половые пути. В результате возрастает вероятность генетических нарушений у потомства. Также инвазивный характер процедуры ИКСИ может повышать риск повреждения ооцита или веретена деления во время инъекции, что способно нарушать процессы репликации и репарации ДНК, потенциально влияя на дальнейшее развитие эмбриона [9, 10]. Несмотря на то что большинство детей, рожденных с помощью ВРТ, здоровы, результаты многих исследований указывают на возможную связь между ВРТ и различными неблагоприятными последствиями [11–16], включая врожденные пороки сердца [17] и онкологические заболевания детского возраста [18]. Также весьма противоречивы данные о повышенных рисках когнитивных нарушений, нарушений развития нервной системы [19], о проблемах с метаболическим здоровьем и негативным влиянием на репродуктивную функцию, связанным с ВРТ [20–22]. Несмотря на существование этих рисков для здоровья, по-прежнему неясно, обусловлены ли они конкретными аспектами ВРТ, такими как метод получения спермы, стимуляция яичников, способ оплодотворения или лабораторные условия, либо они связаны с исходными родительскими факторами и усиливаются из-за обхода естественного отбора. Более того, взаимодействие эпигенетических и генетических факторов в отношении этих последствий для здоровья еще не полностью изучено. В то время как исследования эпигенетических изменений при ВРТ активно расширяются, изучение *de novo* мутаций все еще находится на ранних этапах и продолжают исследования, направленные на всестороннее выяснение их роли у потомства, зачатого с помощью ВРТ [23–26].

МУТАЦИИ DE NOVO

Мутации *de novo* определяются как появление новых генетических изменений, которые возникают в зародышевой линии в пределах одного поколения. Зародышевые *de novo* мутации (germline *de novo* mutations, gDNM) формируются в гаметах одного из родителей и передаются потомству в момент зачатия. В отличие от них постзиготические *de novo* мутации появляются на ранних стадиях эмбрионального развития и могут затрагивать значительную часть клеток организма потомка. Влияние новых генетических мутаций может варьировать от нейтральных или даже полезных изменений, способствующих эволюции, до серьезных нарушений ключевых генетических последовательностей, кото-

рые способны приводить к тяжелым заболеваниям. Мутации *de novo* считаются наиболее опасным типом редких генетических вариаций, поскольку они в меньшей степени подвергаются эволюционному отбору и зачастую оказываются более вредными, чем наследуемые изменения, поскольку они в меньшей степени проходят через эволюционный отбор [5, 27]. Установлена связь мутаций *de novo* с целым рядом заболеваний [28], включая нарушения развития нервной системы [29–31], патологии сердца [32] и раннюю тяжелую миопию [33], а также с редкими спорадическими синдромами пороков развития, такими как синдромы Шинцеля–Гидеона, Кабуки и Боринга–Опица [34]. Более того, недавние исследования также указывают на их ключевую роль в мужском и женском бесплодии [35, 36].

Мутации *de novo* могут возникать на различных этапах развития, в том числе до оплодотворения – в половых клетках, а также в период дробления эмбриона и на стадии бластоцисты. К спектру мутаций *de novo* относятся разнообразные типы мутаций: точечные (однонуклеотидные) варианты (single nucleotide variants, SNV), вставки и делеции (indel) разного размера, а также более крупные вариации числа копий (copy number variations, CNV) и структурные перестройки. Обычно мутации *de novo* выявляют путем анализа образцов ДНК, полученных от трио «отец–мать–ребенок». Предполагается, что в геноме человека в среднем содержится от 44 до 82 *de novo* однонуклеотидных вариантов, из которых 1–2 располагаются в кодирующих областях [37–39]. При этом распределение мутаций *de novo* по геному не является случайным: такие геномные характеристики, как содержание гуанина и цитозина, наличие нуклеосом, повторяющиеся последовательности, частота рекомбинации, уровень транскрипционной активности, время репликации и состояние хроматина, существенно влияют на уязвимость отдельных регионов для мутаций. У одного и того же индивида множество *de novo* мутаций могут располагаться в непосредственной близости, образуя так называемые мутационные кластеры. Напротив, если одинаковые *de novo* мутации возникают у разных людей, они формируют так называемые «горячие точки». Показано, что частота генетических мутаций в зародышевой линии человека по всему геному определяется конкретным классом генетических вариантов [40]. Распространенность зародышевых *de novo* мутаций в человеческой популяции заметно варьирует как внутри одной семьи, так и между разными семьями, причем на эти колебания влияет пол родителей. Считается, что уровень зародышевых *de novo* мутаций может изменяться под воздействием как внутренних,

так и внешних факторов. Одним из важнейших открытий стало обнаружение того, что количество зародышевых *de novo* мутаций возрастает по мере увеличения возраста обоих родителей в момент зачатия, причем у отцов этот эффект особенно выражен. Приблизительно отмечается прирост от 1.35 до 1.5 новых мутаций на каждый дополнительный год возраста отца, тогда как у матерей эта величина намного ниже и составляет около 0.24–0.42 мутаций [41–47]. Примерно 2–3% всех *de novo* мутаций у потомства располагаются на расстоянии менее 20 т.п.н. друг от друга, формируя кластерные *de novo* мутации (clustered *de novo* mutations, cDNM). При этом материнские кластерные *de novo* мутации встречаются чаще, чем отцовские, что связывают с неэффективной репарацией разрывов обеих цепей ДНК по механизму гомологичной рекомбинации в стареющих ооцитах. Подобные нарушения способствуют появлению нерегулируемых горячих точек рекомбинации, в результате чего мутации возникают ближе друг к другу, чем ожидалось бы в норме. Стоит отметить, что 58.4% материнских зародышевых *de novo* мутаций локализуются в определенных районах хромосом 8, 9 и 16, где также регистрируется более высокая частота и одиночных (некластерных) *de novo* мутаций. У мужчин же частота кластерных *de novo* мутаций коррелирует с длиной хромосомы. Эта разница связана с различиями механизмов, лежащих в основе возникновения *de novo* мутаций у представителей разных полов [5, 45].

Основная гипотеза, объясняющая зависимость возникновения мутаций от возраста отца, заключается в том, что мутации накапливаются в результате случайных ошибок при репликации генома в мужской зародышевой линии, обеспечивающей непрерывное формирование сперматозоидов. Сперматогонии, являющиеся стволовыми клетками сперматогенеза, многократно делятся, одновременно самообновляясь и образуя сперматоциты, которые впоследствии превращаются в сперматозоиды. С возрастом мужчины общее число делений в сперматогониях увеличивается, что повышает вероятность появления новых мутаций вследствие ошибок репликации. Соответственно, мутации накапливаются в сперматогониях с течением времени, объясняя так называемый «эффект возраста отца». Хотя модель «эгоистичного сперматогонияльного отбора» позволяет понять происхождение таких доминантных нарушений развития, как ахондроплазия и синдром Аперта, она не охватывает большинство *de novo* мутаций, не дающих очевидного селективного преимущества. В качестве альтернативы недавние исследования выдвинули гипотезу, ставящую под сомнение традиционную точку зрения о том, что репликатив-

ные ошибки являются первоисточником мутаций в мужской зародышевой линии. Согласно этой новой модели, стабильное, но невысокое число спонтанных мутаций, обусловленных репликацией у пожилых отцов, может возрастать за счет нарушений систем репарации ДНК [5, 37, 48, 49].

Механизмы, объясняющие возрастной эффект у матерей, не могут основываться на репликации генома, поскольку образование ооцитов прекращается еще в пренатальном периоде, и дальнейшая репликация ДНК в них не происходит. Следовательно, механизмы, лежащие в основе возрастных *de novo* мутаций у матерей, принципиально отличаются от отцовских. Имеются данные о том, что возраст матери на момент зачатия влияет на частоту мутаций, чему может способствовать накопление повреждений в ооцитах, а также мутации, возникающие на постзиготических этапах развития эмбриона. После оплодотворения у ооцита существует лишь ограниченное время для коррекции повреждений ДНК, внесенных сперматозоидом, прежде чем наступит S-фаза первого митотического деления. Неточная или неполная репарация в этот период способна приводить к мутациям, которые будут определять здоровье потомства – этот механизм получил название «гипотеза о влиянии постмейотического ооцита» (в оригинале на английском «post-meiotic oocyte collusion hypothesis») [50–52]. Подобное объяснение согласуется с данными, согласно которым использование вспомогательных репродуктивных технологий может увеличивать мутационную нагрузку у детей, зачатых с их помощью [52].

Мутации *de novo*, ассоциированные с ВРТ

Существует множество исследований, посвященных изучению естественного зачатия и распространенности *de novo* мутаций [53–55], однако количество исследований, рассматривающих взаимосвязь между оплодотворением с помощью ВРТ и возникновением *de novo* мутаций, весьма ограничено (табл. 1). Хотя многие исследования в целом подтверждают безопасность ВРТ [56–59], недавние данные указывают на возможное увеличение мутационной нагрузки у детей, зачатых с использованием этих методов [6, 20, 35, 60, 61].

В рамках исследования, проведенного Wang и соавт., изучена возможная связь между ВРТ и частотой врожденных пороков сердца (congenital heart defects, CHD) у потомства, с особым вниманием к *de novo* мутациям как возможному фактору риска. Проведено полногеномное секвенирование 1137 человек из 160 семей, у которых оплодотворение произошло спонтанно, и 205 трио семей, воспользо-

зовавшихся услугами ВРТ. Оказалось, что у детей, зачатых с помощью ВРТ, частота зародышевых мутаций *de novo* была существенно выше, чем у детей, зачатых естественным путем, в том числе после коррекции на различные дополнительные факторы, включая возраст родителей, курение, употребление алкоголя и уровень физической активности. В частности, потомство, зачатое с применением ВРТ, продемонстрировало увеличение частоты зародышевых мутаций *de novo* в 4.59 раза, из которых 3.32 мутации имели отцовское происхождение, а 1.26 – материнское [6]. Данный результат согласуется с исследованием Wong и соавт., в котором сообщается, что в геноме ребенка, зачатого при использовании ВРТ, наблюдается в среднем 4.25 дополнительных *de novo* мутаций по сравнению с естественным зачатием [56]. Примечательно, что отцовские мутации *de novo* у потомства, зачатого с помощью ВРТ, характеризовались специфическими заменами C>T в CpG-сайтах, ассоциированными с повышенным риском ишемической болезни сердца. Кроме того, установлено, что большинство этих мутаций (87.9%) передается от отца. Стоит отметить, что использование рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона, а также инъекция высокой дозы хорионического гонадотропина человека связаны с увеличением числа материнских *de novo* мутаций [6]. В другом исследовании, результаты которого противоречат перечисленным, не выявлено существенных различий при прямом сравнении вариантов митохондриальной ДНК (мтДНК, mtDNA) в ооцитах, полученных естественным путем, и в ооцитах, извлеченных после циклов стимуляции яичников. Тем не менее в этом же исследовании обнаружена взаимосвязь между присутствием несинонимичных гетероплазматических вариантов мтДНК в белоккодирующих участках и локусах рРНК и снижением массы тела при рождении. Эти варианты чаще встречались у детей, рожденных от более возрастных матерей, прошедших курсы лечения с применением ВРТ. Предполагается, что эти варианты могут приводить к легким, но существенным митохондриальным дисфункциям, способствующим снижению массы тела при рождении. Этот факт служит предварительным свидетельством того, что митохондриальные генетические факторы могут объяснять различия между детьми, зачатыми с помощью ВРТ и естественным способом [61].

Как отмечалось ранее, процедура ИКСИ вызывает больше опасений по сравнению с другими методами ВРТ из-за ее инвазивного характера и потенциальных рисков, связанных с отбором и манипуляциями со сперматозоидами. Однако данные по этому вопросу противоречивы [23, 63, 64].

Таблица 1. Исследования, посвященные ВРТ и мутациям *de novo*

Исследуемая группа (n)*	Контрольная группа (n)	Основные результаты исследования	Исследование
12 ИКСИ	30 СБ	У 6 из 12 детей, зачатых с помощью ИКСИ, выявлено 10 <i>de novo</i> «изменений числа копий генома в одном направлении». Они характеризовались одновременным увеличением или уменьшением числа копий относительно обоих родителей, причем чаще встречались именно потери копий.	[20]
25 трио ВРТб	693 трио СБ	Применение ВРТ продемонстрировало статистически значимое ($P=3.86 \times 10^{-3}$) увеличение количества <i>de novo</i> мутаций в среднем на 4.25 мутации по сравнению с естественным зачатием с учетом прочих факторов.	[56]
49 квартетов ² ЭКО	62 квартета ² СБ	Частота возникновения <i>de novo</i> хромосомных aberrаций или крупных структурных ДНК-нарушений оказалась сопоставимой при ЭКО и при естественном зачатии.	[57]
2505 ИКСИ: 1114 пренатальных тестов плода, 1391 постнатальный тест плода	-	Частота <i>de novo</i> хромосомных аномалий (как на пренатальной, так и на постнатальной стадии) у детей, зачатых с помощью ИКСИ, оказалась выше, чем в общей популяции. Рост этого показателя ассоциирован с параметрами спермы.	[60]
116 трио, 86 квартетов (близнецы) ВРТб	205 трио СБ	У детей, зачатых с помощью ВРТ, в среднем выявлено на 4.59 больше зародышевых <i>de novo</i> мутаций по сравнению с детьми, зачатыми естественным путем. При этом 3.32 мутации приходились на отцовский геном и 1.26 — на материнский, в том числе после учета факторов, таких как возраст родителей на момент зачатия, курение, употребление алкоголя и особенности физической активности.	[6]
49 трио и 2 квартета ВРТб (17 ЭКО, 18 ИКСИ+ИКСИ-TESE)	18 трио ВРТб	Не выявлено статистически значимых различий в количестве <i>de novo</i> мутаций у ребенка при разных методах зачатия, независимо от возраста родителей на момент зачатия.	[58]
1496 ВРТб (ЭКО/ИКСИ)	1396 СБ	В группе ЭКО/ИКСИ наблюдалось незначительное повышение общей частоты <i>de novo</i> хромосомных аномалий по сравнению с группой, где зачатие произошло естественным путем. Однако данная разница не достигла уровня статистической значимости.	[62]
535 ВРТб с подозрением на генетические заболевания	1316 СБ с подозрением на генетические заболевания	Доля мутаций <i>de novo</i> у детей из группы ВРТ оказалась сопоставимой с аналогичной долей у детей, зачатых без применения ВРТ.	[59]
270 ВРТб, 67 ВРТб пар «мать–ребенок», 113 ооцитов, полученных в естественных менструальных циклах	181 СБ, 90 СБ пар «мать–ребенок», 113 ооцитов, полученных после стимуляции яичников	У детей, зачатых с помощью ВРТ, чаще встречаются <i>de novo</i> несинонимичные варианты мтДНК по сравнению с детьми, зачатыми естественным путем.	[61]

Трио – мать, отец и ребенок.

Квартет¹ – мать, отец и двое братьев/сестер.

Квартет² – отец, мать, плацента и пуповинная кровь новорожденного.

ВРТб – беременности благодаря вспомогательным репродуктивным технологиям (ЭКО + ИКСИ).

СБ – спонтанные беременности.

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение.

ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида.

ИКСИ-TESE – экстракция сперматозоидов из яичка с последующей ИКСИ (testicular sperm extraction in conjunction, TESE).

*Участники не имели диагностированных генетических заболеваний, если не указано иное.

Влияние ИКСИ на мутации *de novo* исследовали несколько научных групп, и в одном из них, проведенном Woldringh и соавт., выявлено относительное увеличение «однонаправленных изменений числа копий» (same direction copy number changes) в условиях ИКСИ в 5 раз по сравнению с контрольной группой.

Однако из-за ограниченного размера выборки необходимы дальнейшие исследования на большей выборке, чтобы подтвердить эти результаты [20]. При рождении детей посредством ИКСИ также зафиксирован значительно более высокий уровень *de novo* хромосомных аномалий, включая

анеуплоидии по половым хромосомам и структурные хромосомные перестройки, особенно реципрокные транслокации [65]. Частота *de novo* аномалий кариотипа у плодов составила 3.2%, в основном это были новые аутомсомные аномалии, а не аномалии половых хромосом. Кроме того, установлено, что частота *de novo* хромосомных нарушений среди детей, зачатых с помощью ИКСИ, составляет 1.9%, что значительно превышает аналогичные показатели в общей популяции. Эти нарушения выявлялись как до, так и после рождения и зависели от концентрации сперматозоидов у отцов. В частности, установлено, что более высокий уровень *de novo* хромосомных аномалий наблюдается у плодов и детей от пар, где у мужчин показатели концентрации спермы и общее количество сперматозоидов были ниже референсных значений. Важно отметить, что частота *de novo* аномальных результатов при пренатальных тестах не показала статистически значимых различий при сравнении использования эякулята и спермы, полученной путем пункции (не-эякулированной), а также при сравнении свежей и размороженной спермы. Однако отсутствие контрольной группы в исследовании могло повлиять на более высокую выявляемость аномалий кариотипа. Помимо этого, широко известно, что при наступлении беременности, полученной с помощью ВРТ, проводится более тщательная пренатальная диагностика по сравнению с беременностями, возникшими естественным путем. Следовательно, чтобы проверить, действительно ли более высокий уровень аномалий кариотипа после ИКСИ связан с повышенным уровнем наблюдения, авторы указывают на то, что оптимальная контрольная группа должна состоять из спонтанно зачатых беременностей, в которых применялись те же протоколы скрининга, что позволит провести более точный сравнительный анализ [60].

С другой стороны, ряд исследований не подтвердил наличие связи между количеством *de novo* мутаций и применением ВРТ. Huang и соавт. изучали молекулярные дефекты у новорожденных, зачатых с помощью ВРТ и поступивших в отделение интенсивной терапии с подозрением на генетические патологии. Полученные данные сравнивали с генетическими профилями новорожденных, зачатых без использования ВРТ. Согласно результатам анализа, не выявлено статистически значимых различий в генетических характеристиках двух групп, в том числе на уровне диагностированных аномалий и доле *de novo* вариантов (*de novo variants*, DNV), а также в процентном соотношении однонуклеотидных вариантов (SNV) и вариаций числа копий (CNV). При этом, как отмечают авторы, исследо-

вание имело ряд ограничений: включало только живорожденных детей, исключая мертворожденных плодов и прерванные беременности. Это может ограничивать оценку возможных летальных для плода однонуклеотидных замен или вариаций числа копий. Кроме того, в работе не были учтены такие известные факторы риска, как пожилой возраст отцов, нездоровый образ жизни родителей и наличие бесплодия [59]. Тем не менее указанные результаты согласуются с данными, полученными Smits и соавт., которые также не обнаружили существенных различий в количестве *de novo* вариантов между 53 детьми и их родителями [58]. Однако Smits и соавт. не рассматривали влияние ВРТ на распространенность соматических *de novo* мутаций у потомства, а также не изучали вариации числа копий. Esteki и соавт. проанализировали распространенность и масштаб крупных *de novo* вариаций числа копий размером более 100 т.п.н. у новорожденных, зачатых с помощью ЭКО, по сравнению с зачатиями естественным путем. Авторы исследовали геномный профиль плода и плаценты после родов, чтобы оценить частоту и сохранность крупных геномных аномалий, которые могут быть связаны с хромосомной нестабильностью (*chromosomal instability*, CIN), возникающей при использовании ЭКО. Показано, что примерно в 10.8% случаев беременности наблюдались спорадические геномные aberrации *de novo*, распределенные по всему геному, что указывает на то, что эти события являются случайными и редкими проявлениями эмбриональной хромосомной нестабильности без заметных функциональных последствий для биологии плаценты или здоровья плода [57]. Важно также подчеркнуть, что ВРТ нередко применяются для снижения риска патогенных *de novo* мутаций, которые могут встречаться чаще из-за повышенного мозаицизма у родителей. Это состояние повышает вероятность повторного появления мутации, увеличивая риск того, что у следующего ребенка будет такая же *de novo* мутация, как и у предыдущего [66].

Несмотря на то что основной акцент в приведенном обзоре сделан на процедурах ВРТ у человека, следует отметить неоднозначность результатов, полученных в исследованиях на животных моделях. Например, в экспериментах с трансгенными мышами не выявлено существенных различий ни в частоте, ни в спектре *de novo* мутаций между плодами, зачатыми естественным путем, и теми, что были получены с использованием различных методов ВРТ [67]. Тем не менее следует учитывать дополнительные данные, в частности, о крупном рогатом скоте, у которого родословные отслеживаются на протяжении многих поколений, а случаи многочисленно-

го одно- и разноотцовского потомства встречаются довольно часто. Такое всеобъемлющее ведение записей предоставляет уникальные возможности для создания больших родословных, которые особенно хорошо подходят для идентификации *de novo* мутаций. Более того, в разведении крупного рогатого скота широко используют ВРТ, в том числе искусственное осеменение (применение замороженной спермы), ЭКО и ИКСИ, что предоставляет уникальную возможность оценить влияние методов ВРТ на появление *de novo* мутаций. В исследованиях на крупном рогатом скоте, представляющем особый интерес для анализа данной проблемы, прослеживается заметная связь между возникновением *de novo* мутаций и применением ВРТ. В частности, показано, что ЭКО увеличивает частоту возникновения *de novo* структурных вариантов (*de novo structural variation*, dnSV) примерно в 5 раз. Эти мутации появляются на самых ранних стадиях развития эмбриона, а именно, на стадии одной или двух клеток [68]. При этом вклад ВРТ в формирование *de novo* мутаций, по имеющимся данным, оказывается менее существенным, чем влияние возраста родителей и других факторов внешней среды (обобщение представлено на рис. 1). Таким образом, несмотря на существующие ограничения в исследованиях данной области, наблюдения на крупном рогатом скоте указывают на необходимость дальнейших, более масштабных исследований для детального выяснения роли ВРТ в формировании *de novo* мутаций.

ВОЗРАСТ КАК ОГРАНИЧИВАЮЩИЙ ФАКТОР ВРТ

Одним из наиболее спорных вопросов является возможность ограничения доступа к ВРТ на основе возраста родителей. Например, в публикации Bewley и соавт. подчеркнута важность предоставления женщинам всеобъемлющей информации о репродуктивности и фертильности, а также об ограничениях ВРТ как средства достижения беременности в пожилом возрасте. Несмотря на то, что их рассуждения сосредоточены в первую очередь на влиянии биологических факторов на фертильность и перспективах здоровой беременности, в конечном итоге они передают идею о том, что существует определенный хронологический период времени, в течение которого деторождение наиболее целесообразно. Действительно, в их подзаголовке утверждается, что наиболее безопасным возрастом для деторождения остается 20–35 лет, в отличие от потенциальных рисков, связанных с ВРТ, для женщин, превышающих этот возрастной диапазон [69].

Возрастные ограничения для применения ВРТ различаются в разных странах. Например, в США

Факторы окружающей среды



ВРТ

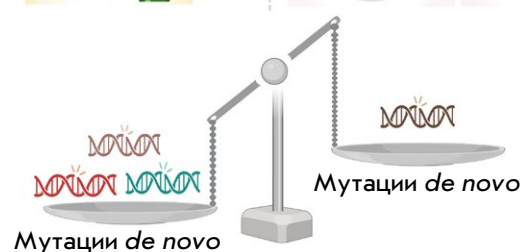


Рис. 1. Факторы, способствующие возникновению мутаций *de novo*. Проиллюстрированы две категории факторов, которые влияют на накопление *de novo* мутаций: факторы окружающей среды (левая панель) и вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) (правая панель)

нет строгих законов, ограничивающих возраст, но существуют рекомендации от Этического комитета Американского общества репродуктивной медицины. Этот комитет настоятельно советует не предоставлять донорские ооциты или эмбрионы женщинам старше 55 лет даже при отсутствии каких-либо сопутствующих заболеваний. Авторы обосновывают установление возрастного предела в 55 лет, ссылаясь на ограниченные данные о безопасности для матери и плода, а также на опасения, связанные с долголетием и необходимостью достаточной психосоциальной поддержки для воспитания ребенка до взрослого возраста.

Законодательство, регулирующее ВРТ по всей Европе, свидетельствует, что в большинстве стран установлен хронологический возрастной предел для потенциальных матерей, обычно в диапазоне от 45 до 50 лет. Например, в Чешской Республике женщины, желающие получить доступ к ВРТ,

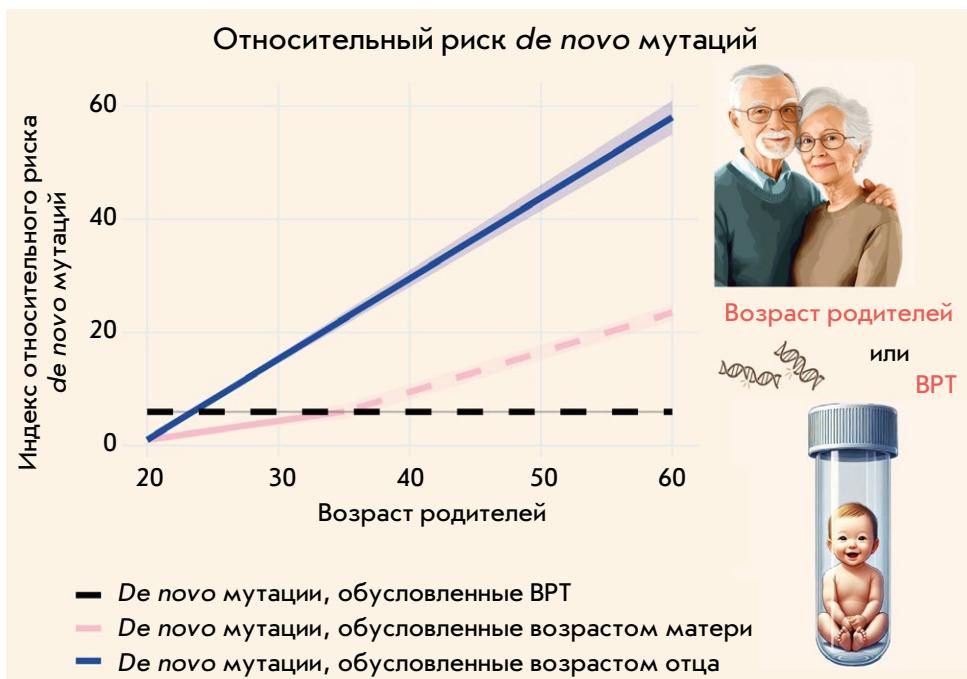


Рис. 2. Влияние родительского возраста и ВРТ на относительный риск возникновения *de novo* мутаций. По оси абсцисс — возраст родителей, по оси ординат — индекс относительного риска для *de novo* мутаций, нормализованный по минимальному уровню риска, наблюдаемому в возрасте 20 лет. Увеличение индекса указывает на повышенную вероятность мутаций *de novo*. Затененные области вокруг линий иллюстрируют диапазон потенциальных рисков, зависящих от изменчивости коэффициентов, применяемых в расчетах. Пунктирный сегмент линии материнских *de novo* мутаций для женщин старше 35 лет указывает на заметное повышение риска, однако это увеличение остается неподтвержденным [56, 68].

Расчет индекса включает следующие формулы:

$\Delta_{\text{отцовский}}$: Вклад возраста отца в риск возникновения de novo мутаций:

$$\Delta_{\text{ОТЦОВСКИЙ}} = (\text{Возраст} - 20) \times k_{\text{ОТЦОВСКИЙ}}, \text{ где } k_{\text{ОТЦОВСКИЙ}} = 1.35-1.5 [41-47].$$

Δ: Вклад возраста матери в риск возникновения de novo мутаций:

Для возраста до 35 лет:

$$\Delta_{\text{материнский}} = (\text{Возраст} - 20) \times k_{\text{низкий материнский}}, \text{ где } k_{\text{низкий материнский}} = 0.24-0.42 [41-47].$$

Для возраста старше 35 лет:

$$\Delta_{\text{материнский}} = \Delta_{\text{материнский}}(35) + (\text{Возраст} - 35) \times k_{\text{высокий_материнский}}, \text{ где } \Delta_{\text{материнский}}(35) - \text{это значение риска в возрасте 35 лет, рассчитанное с использованием первой формулы, а } k_{\text{высокий_материнский}} = 0.61 [42].$$

Риск, связанный с ВРТ, рассчитывали как фиксированный дополнительный вклад, который добавляется к общему родительскому риску независимо от возраста и составляет приблизительно 4.25 [56].

должны быть моложе 49 лет [70]. В Бельгии будущие матери должны быть моложе 45 лет, чтобы запросить доступ к ВРТ, а имплантация эмбриона или инсеминация не разрешены после достижения ими возраста 48 лет [71]. Отчет Шведского национального совета по медицинской этике указывает на то, что в Швеции нет законодательно установленных верхних возрастных пределов для ЭКО. Однако отмечается, что советы графств обычно устанавливают верхние возрастные ограничения в диапазоне от 37 до 41 года. В отчете утверждается, что по крайней мере один из родителей должен быть достаточно молодым, чтобы взять на себя

ответственность за ребенка до достижения им совершеннолетия [72]. Это утверждение согласуется с позицией Швейцарии, которая предусматривает, что оба будущих родителя должны быть в возрасте, который позволяет им адекватно заботиться о своем ребенке до достижения ребенком совершеннолетия [71]. Эстония, Греция и Нидерланды устанавливают предельный возраст матери на уровне 50 лет [70]. Примечательно, что социальное исследование, изучающее общественное восприятие материнского возраста, показало, что 43% участников считают, что женщины должны прекратить деторождение до достижения 50 лет [73].

Примечательно также, что, несмотря на повышенные риски проблем со здоровьем у потомства, тесно связанные с пожилым возрастом родителей, отцы, как правило, сталкиваются с меньшим количеством ограничений в отношении применения ВРТ. В Швеции потенциальным отцам не разрешается быть старше 56 лет, в то время как в Финляндии и Португалии возрастной предел установлен на уровне 60 лет [71]. Недавнее социальное исследование, проведенное в Соединенных Штатах, показало, что предпочтительный верхний возрастной предел для мужчин – 64 года [74].

На основе анализа научных исследований и законодательных подходов в разных странах можно сделать вывод, что родительский возраст является существенным фактором, влияющим на доступ к ВРТ, особенно женщин. Многочисленные исследования и правительственные постановления подчеркивают риски, связанные с пожилым возрастом матери, которые могут привести к потенциальным осложнениям как для матери, так и для ребенка. Несмотря на растущие ограничения, крайне важно информировать потенциальных родителей о том, что успешное зачатие в пожилом возрасте все еще может иметь потенциальные последствия для здоровья ребенка, такие как повышенная вероятность *de novo* мутаций. Следовательно, фокус должен выходить за рамки простого регулирования доступа к ВРТ; он также должен охватывать предоставление всеобъемлющей информации о потенциальных рисках и их последствиях для семьи.

ВЫВОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Влияние ВРТ на *de novo* мутации у людей по-прежнему остается спорным вопросом, тем не менее, старение, особенно отцовское, оказывает наибольшее влияние на количество *de novo* мутаций, наряду с репродуктивными нарушениями, связанными также с факторами окружающей среды

(рис. 2). Однако ограничения, связанные с малым размером выборки, и преимущественное применение ВРТ у пар, испытывающих проблемы с фертильностью, могут скрыть его прямое влияние на *de novo* мутации. Более того, многие исследования не учитывают мертворождения и прерывания беременности, что усложняет оценку летальных *de novo* мутаций. Ценную информацию для устранения этих ограничений могут предоставить исследования на модельных организмах, таких как крупный рогатый скот, а также исследования мутаций у детей, зачатых с помощью ВРТ, с использованием различных питательных сред и протоколов. В данном обзоре основное внимание уделяется связи между *de novo* мутациями и ВРТ, однако потенциальные последствия ВРТ в виде эпигенетических изменений также имеют место и требуют более детального изучения. Таким образом, мы стремимся получить представление о последствиях для будущих поколений и подчеркнуть постоянную необходимость изучения долгосрочных последствий ВРТ. ●

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Результаты получены при финансовой поддержке исследования, реализуемого в рамках государственной программы федеральной территории «Сириус» «Научно-технологическое развитие федеральной территории «Сириус» (Соглашение № 18-03 от 10.09.2024, Е. Василевская).

Рисунки были сделаны с использованием BioRender.com. Кроме того, некоторые элементы рисунков созданы с поддержкой инструментов искусственного интеллекта, включая DALL-E и MidJourney. Мы признаем вклад этих платформ в визуальное представление данной работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ESHRE, 2023. ART fact sheet, data 2019 [Press release]. <https://www.eshre.eu/Press-Room/Resources>.
2. Wyns C., De Geyter C., Calhaz-Jorge C., Kupka M.S., Motrenko T., Smeenk J., Bergh C., Tandler-Schneider A., Rugescu I.A., et al. // Hum. Reprod. Open. 2022. V. 2022. № 3. P. hoac022. doi: 10.1093/hropen/hoac022.
3. Zegers-Hochschild F., Adamson G.D., Dyer S., Racowsky C., de Mouzon J., Sokol R., Rienzi L., Sunde A., Schmidt L., Cooke I.D., et al. // Fertil Steril. 2017. V. 108. № 3. P. 393–406. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.06.005.
4. Ahmadi H., Aghebati-Maleki L., Rashidiani S., Csabai T., Nnaemeka O.B., Szekeres-Bartho J. // Internat. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. № 17. P. 13564. doi: 10.3390/ijms241713564.
5. Goldmann J.M., Veltman J.A., Gilissen C. // Trends Genet. 2019. V. 35. № 11. P. 828–839. doi: 10.1016/j.tig.2019.08.005.
6. Wang C., Lv H., Ling X., Li H., Diao F., Dai J., Du J., Chen T., Xi Q., Zhao Y., et al. // Cell Res. 2021. V. 31. № 8. P. 919–928. doi: 10.1038/s41422-021-00521-w.
7. Heber M.F., Ptak G.E. // Biol. Reprod. 2021. V. 104. № 4. P. 734–744. doi: 10.1093/biolre/iaaa224.
8. Jain M., Singh M. // StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publ. 2023. Bookshelf ID: NBK576409.
9. Chamayou S., Giaccone F., Cannarella R., Guglielmino A. // J. Clin. Med. 2023. V. 12. № 2. P. 671. doi: 10.3390/jcm12020671.
10. Berntsen S., Laivuori H., la Cour Freiesleben N., Loft A., Söderström-Anttila V., Oldereid N., et al. // Hum. Reprod. Update. 2021. V. 27. P. 801–847. doi: 10.1093/humupd/dmab005.

11. Zhu J.L., Basso O., Obel C., Bille C., Olsen J. // *BMJ*. 2006. V. 333. № 7570. P. 679. doi: 10.1136/bmj.38919.495718.AE.
12. Hansen M., Kurinczuk J.J., Bower C., Webb S. // *N. Engl. J. Med.* 2002. V. 346. № 10. P. 725–730. doi: 10.1056/NEJMoa010035.
13. Rumbold A.R., Moore V.M., Whitrow M.J., Oswald T.K., Moran L.J., Fernandez R.C., Barnhart K.T., Davies M.J. // *Hum. Reprod.* 2017. V. 32. № 7. P. 1489–1507. doi: 10.1093/humrep/dex085.
14. Wijs L.A., Fusco M.R., Doherty D.A., Keelan J.A., Hart R.J. // *Hum. Reprod Update.* 2021. V. 28. № 1. P. 132–148. doi: 10.1093/humupd/dmab031.
15. Zhang Z., Liu X., Wei C., Luo J., Shi Y., Lin T., He D., Wei G. // *J. Ped. Urol.* 2021. V. 17. № 1. P. 9–20. doi: 10.1016/j.jpuro.2020.11.005.
16. Hart R.J., Wijs L.A. // *Front. Reprod. Hlth.* 2022. V. 4. P. 1045762. doi: 10.3389/frph.2022.1045762.
17. Giorgione V., Parazzini F., Fesslova V., Cipriani S., Candiani M., Inversetti A., Sigismondi C., Tiberio F., Cavoretto P. // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018. V. 51. № 1. P. 33–42. doi: 10.1002/uog.18932.
18. La Rovere M., Franzago M., Stuppia L. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 17. P. 4169. doi: 10.3390/ijms20174169.
19. Briana D.D., Malamitsi-Puchner A. // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2019. V. 32. № 13. P. 2256–2261. doi: 10.1080/14767058.2018.1425834.
20. Woldringh G.H., Janssen I.M., Hehir-Kwa J.Y., van den Elzen C., Kremer J.A.M., de Boer P., Schoenmakers E.F.P.M. // *Hum. Reprod.* 2009. V. 24. № 1. P. 233–240. doi: 10.1093/humrep/den323.
21. Heber M.F., Ptak G.E. // *Biol. Reprod.* 2021. V. 104. № 4. P. 734–744. doi: 10.1093/biolre/iaaa224.
22. Catford S.R., Halliday J., Lewis S., O'Bryan M.K., Handelsman D.J., Hart R.J., McBain J., Rombauts L., Amor D.J., Saffery R., et al. // *Fertility Sterility.* 2022. V. 117. № 4. P. 727–737. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.12.026.
23. Cannarella R., Crafa A., Mongioi L.M., Leggio L., Iraci N., La Vignera S., Condorelli R.A., Calogero A.E. // *J. Clin. Med.* 2022. V. 11. № 17. P. 5056. doi: 10.3390/jcm11175056.
24. Koeck R.M., Busato F., Tost J., Consten D., van Echten-Arends J., Mastenbroek S., Wurth Y., Remy S., Langie S., Nawrot T.S., et al. // *NPJ Genom. Med.* 2022. V. 7. № 1. P. 1–11. doi: 10.1038/s41525-022-00310-3.
25. Novakovic B., Lewis S., Halliday J., Kennedy J., Burgner D.P., Czajko A., Kim B., Sexton-Oates A., Juonala M., Hammarberg K., et al. // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. 3922. doi: 10.1038/s41467-019-11929-9.
26. Sciorio R., Manna C., Fauque P., Rinaudo P. // *J. Clin. Med.* 2023. V. 12. № 13. P. 4444. doi: 10.3390/jcm11082135.
27. Lopes-Marques M., Mort M., Carneiro J., Azevedo A., Amaro A.P., Cooper D.N., Azevedo L. // *Hum. Genom.* 2024. V. 18. № 1. P. 20. doi: 10.1186/s40246-024-00587-8.
28. Mohiuddin M., Kooy R.F., Pearson C.E. // *Front Genet.* 2022. V. 13. P. 983668. doi: 10.3389/fgene.2022.983668.
29. Awadalla P., Gauthier J., Myers R.A., Casals F., Hamdan F.F., Griffing A.R., Côté M., Henrion E., Spiegelman D., Tarabeux J., et al. // *Am. J. Hum. Genet.* 2010. V. 87. № 3. P. 316–324. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.07.019.
30. Satterstrom F.K., Kosmicki J.A., Wang J., Breen M.S., De Rubeis S., An J.-Y., Peng M., Collins R., Grove J., Klei L., et al. // *Cell.* 2020. V. 180. № 3. P. 568–584. doi: 10.1016/j.cell.2019.12.036.
31. An J.-Y., Lin K., Zhu L., Werling D.M., Dong S., Brand H., Wang H.Z., Zhao X., Schwartz G.B., Collins R.L., et al. // *Science.* 2018. V. 362. № 6420. P. 6576. doi: 10.1126/science.aat6576.
32. Jin S.C., Homsy J., Zaidi S., Lu Q., Morton S., DePalma S.R., Zeng X., Qi H., Chang W., Sierant M.C., et al. // *Nat. Genet.* 2017. V. 49. № 11. P. 1593–1601. doi: 10.1038/ng.3970.
33. Jin Z.-B., Wu J., Huang X.-F., Feng C.-Y., Cai X.-B., Mao J.-Y., Xiang L., Wu K.-C., Xiao X., Kloss B.A., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017. V. 114. № 16. P. 4219–4224. doi: 10.1073/pnas.1615970114.
34. Veltman J.A., Brunner H.G. // *Nat. Rev. Genet.* 2012. V. 13. № 8. P. 565–575. doi: 10.1038/nrg3241.
35. Li Q., Zhao L., Zeng Y., Kuang Y., Guan Y., Chen B., Xu S., Tang B., Wu L., Mao X., et al. // *Genome Biol.* 2023. V. 24. № 1. P. 68. doi: 10.1186/s13059-023-02894-0.
36. Oud M.S., Smits R.M., Smith H.E., Mastroiusta F.K., Holt G.S., Houston B.J., de Vries P.F., Alobaidi B.K.S., Batty L.E., Ismail H., et al. // *Nat. Commun.* 2022. V. 13. № 1. P. 154. doi: 10.1038/s41467-021-27132-8.
37. Acuna-Hidalgo R., Veltman J.A., Hoischen A. // *Genome Biol.* 2016. V. 17. № 1. P. 241. doi: 10.1186/s13059-016-1110-1.
38. Zhao G., Li K., Li B., Wang Z., Fang Z., Wang X., Zhang Y., Luo T., Zhou Q., Wang L., et al. // *Nucl. Acids Res.* 2020. V. 48. № D1. P. D913–D926. doi: https://academic.oup.com/nar/article/48/D1/D913/5603227.
39. Turner T.N., Yi Q., Krumm N., Huddleston J., Hoekzema K.F., Stessman H.A., Doebley A.-L., Bernier R.A., Nickerson D.A., Eichler E.E. // *Nucl. Acids Res.* 2017. V. 45. № D1. P. D804–D811. doi: 10.1093/nar/gkw865.
40. Campbell C.D., Eichler E.E. // *Trends Genet.* 2013. V. 29. № 10. P. 575–584. doi: 10.1016/j.tig.2013.04.005.
41. Sasani T.A., Pedersen B.S., Gao Z., Baird L., Przeworski M., Jorde L.B., Quinlan A.R. // *eLife.* 2019. V. 8. P. e46922. doi: 10.7554/eLife.46922.
42. Wong W.S.W., Solomon B.D., Bodian D.L., Kothiyal P., Eley G., Huddleston K.C., Baker R., Thach D.C., Iyer R.K., Vockley J.G., et al. // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P. 10486. doi: 10.1038/ncomms10486.
43. Kong A., Frigge M.L., Masson G., Besenbacher S., Sulem P., Magnusson G., Gudjonsson S.A., Sigurdsson A., Jonasdottir A., Jonasdottir A., et al. // *Nature.* 2012. V. 488. № 7412. P. 471. doi: 10.1038/nature11396.
44. Wood K.A., Goriely A. // *Fertility Sterility.* 2022. V. 118. № 6. P. 1001. doi: 10.1016/j.fertnstert.2022.10.017.
45. Goldmann J.M., Veltman J.A., Gilissen C. // *Trends Genet.* 2019. V. 35. № 11. P. 828–839. doi: 10.1038/ng.3597.
46. Jónsson H., Sulem P., Kehr B., Kristmundsdottir S., Zink F., Hjartarson E., Hardarson M.T., Hjorleifsson K.E., Eggerthsson H.P., Gudjonsson S.A., et al. // *Nature.* 2017. V. 549. № 7673. P. 519–522. doi: 10.1038/nature24018.
47. Kessler M.D., Loesch D.P., Perry J.A., Heard-Costa N.L., Taliun D., Cade B.E., Wang H., Daya M., Ziniti J., Datta S., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020. V. 117. № 5. P. 2560–2569. doi: 10.1073/pnas.1902766117.
48. Xia B., Yan Y., Baron M., Wagner F., Barkley D., Chiodin M., Kim S.Y., Keefe D.L., Alukal J.P., Boeke J.D., et al. // *Cell.* 2020. V. 180. № 2. P. 248–262.e21. doi: 10.1016/j.cell.2019.12.015.
49. Choufani S., Turinsky A.L., Melamed N., Greenblatt E., Brudno M., Bérard A., Fraser W.D., Weksberg R., Trasler J., Monnier P., et al. // *Hum. Mol. Genet.* 2019. V. 28. № 3. P. 372–385. doi: 10.1093/hmg/ddy321.
50. Aitken R.J. // *Hum. Reprod.* 2023. V. 38. № 10. P. 1861–1871. doi: 10.1093/humrep/dead157.
51. Gao Z., Moorjani P., Sasani T.A., Pedersen B.S., Quinlan A.R., Jorde L.B., Amster G., Przeworski M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019. V. 116. № 19. P. 9491–9500. doi: 10.1073/pnas.1901259116.

52. Aitken R.J. // *Reprod. BioMed. Online*. 2022. V. 45. № 1. P. 109–124. doi: 10.1016/j.rbmo.2022.03.012.
53. Crow J.F. // *Nat. Rev. Genet.* 2000. V. 1. № 1. P. 40–47. doi: 10.1038/35049558.
54. Jónsson H., Sulem P., Arnadottir G.A., Pálsson G., Eggertsson H.P., Kristmundsdóttir S., Zink F., Kehr B., Hjorleifsson K.E., Jensson B.Ö., et al. // *Nat. Genet.* 2018. V. 50. № 12. P. 1674–1680. doi: 10.1038/s41588-018-0259-9.
55. Belyeu J.R., Brand H., Wang H., Zhao X., Pedersen B.S., Feusier J., Gupta M., Nicholas T.J., Brown J., Baird L., et al. // *Am. J. Hum. Genet.* 2021. V. 108. № 4. P. 597–607. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.02.012.
56. Wong W.P., Hassed C., Chambers R., Coles J. // *Front Aging Neurosci.* 2016. V. 8. P. 156. doi: 10.3389/fnagi.2016.00156.
57. Zamani Esteki M., Viltrop T., Tšuiiko O., Tiirats A., Koel M., Nõukas M., Žilina O., Teearu K., Marjonen H., Kahila H., et al. // *Nat. Med.* 2019. V. 25. № 11. P. 1699–1705. doi: 10.1038/s41591-019-0620-2.
58. Smits R.M., Xavier M.J., Oud M.S., Astuti G.D.N., Meijerink A.M., de Vries P.F., Holt G.S., Alobaidi B.K.S., Batty L.E., Khazeeva G., et al. // *Hum. Reprod.* 2022. V. 37. № 6. P. 1360–1369. doi: 10.1093/humrep/deac068.
59. Huang Z., Xiao F., Xiao H., Lu Y., Yang L., Zhuang D., Chen L., Wei Q., Jiang Y., Li G., et al. // *JAMA Netw Open.* 2023. V. 6. № 4. P. e236537. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2023.6537.
60. Belva F., Bonduelle M., Buysse A., van den Bogaert A., Hes F., Roelants M., Verheyen G., Tournaye H., Keymolen K. // *Hum. Reprod.* 2020. V. 35. № 9. P. 2149–2162. doi: 10.1093/humrep/deaa162.
61. Mertens J., Belva F., van Montfoort A.P.A., Regin M., Zambelli F., Seneca S., Couvreur de Deckersberg E., Bonduelle M., Tournaye H., Stouffs K., et al. // *Nat. Commun.* 2024. V. 15. № 1. P. 1232. doi: 10.1038/s41467-024-45446-1.
62. Yuan S., Guo L., Cheng D., Li X., Hu H., Hu L., Lu G., Lin G., Gong F., Tan Y.-Q. // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2022. V. 39. № 7. P. 1683–1689. doi: 10.1007/s10815-022-02500-5.
63. Sciorio R., Esteves S.C. // *J. Clin. Med.* 2022. V. 11. № 8. P. 2135. doi: 10.3390/jcm11082135.
64. Oud M.S., Smits R.M., Smith H.E., Mastroianni F.K., Holt G.S., Houston B.J., de Vries P.F., Alobaidi B.K.S., Batty L.E., Ismail H., et al. // *Nat. Commun.* 2022. V. 13. № 1. P. 154. doi: 10.1038/s41467-021-27132-8.
65. Bonduelle M., van Assche E., Joris H., Keymolen K., Devroey P., Van Steirteghem A., Liebaers I. // *Hum. Reprod.* 2002. V. 17. № 10. P. 2600–2614. doi: 10.1093/humrep/17.10.2600.
66. Xu N., Shi W., Cao X., Zhou X., Jin L., Huang H.-F., Chen S., Xu C. // *J. Med. Genet.* 2023. V. 60. № 9. P. 910–917. doi: 10.1136/jmg-2022-108920.
67. Caperton L., Murphey P., Yamazaki Y., McMahan C.A., Walter C.A., Yanagimachi R., McCarrey J.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. № 12. P. 5085–5090. doi: 10.1073/pnas.0611642104.
68. Lee Y.-L., Bouwman A.C., Harland C., Bosse M., Costa Monteiro Moreira G., Veerkamp R.F., Mullaart E., Cambisano N., Groenen M.A.M., Karim L., et al. // *Genome Res.* 2023. V. 33. № 9. P. 1455–1464. doi: 10.1101/gr.277884.123.
69. Martin L.J. // *Women's Stud. Internat. Forum.* 2017. V. 62. P. 91–98. doi: 10.1016/j.wsif.2017.04.004.
70. Bewley S., Davies M., Braude P. // *BMJ.* 2005. V. 331. № 7517. P. 588–589. doi: 10.1136/bmj.331.7517.588.
71. Kocourková J., Konečná H., Burcin B., Kučera T. // *Reprod. Biomed. Online.* 2015. V. 30. № 5. P. 482–492. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.01.017.
72. Martani A., De Clercq E., De Geyter C., Pennings G., Wangmo T., Elger B.S. // *J. Law Biosci.* 2022. V. 9. № 2. P. lsac036. doi: 10.1093/jlb/lsac036.
73. Londra L., Wallach E., Zhao Y. // *Semin. Fetal Neonat. Med.* 2014. V. 19. № 5. P. 264–271. doi: 10.1016/j.siny.2014.07.003.
74. Bowman M.C., Saunders D.M. // *Hum. Reprod.* 1994. V. 9. № 1. P. 167–171. doi: 0.1093/oxfordjournals.humrep.a138309.