

<https://doi.org/10.29296/25877305-2018-11-05>

## Носительство мутации муковисцидоза сквозь призму ВРТ (современное состояние проблемы)

К. Краснополянская<sup>1</sup>, доктор медицинских наук, профессор,  
И. Шугинин<sup>1</sup>, доктор медицинских наук,  
Н. Сесина<sup>3</sup>,  
Е. Воскобоева<sup>2, 4</sup>,  
А. Бекетова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии, Москва

<sup>2</sup>Медико-генетический научный центр, Москва

<sup>3</sup>Международная клиника «Семья», Москва

<sup>4</sup>Клинико-диагностическая лаборатория репродукции человека «ГенЛаб», Москва

E-mail: sesina@mail.ru

*Муковисцидоз (кистозный фиброз) – одно из самых часто встречающихся в европейской популяции моногенных заболеваний. Рассмотрены возможности современных репродуктивных технологий для предотвращения наследования гена муковисцидоза детьми пациентов с разными видами носительства моногенного заболевания.*

**Ключевые слова:** генетика, акушерство и гинекология, муковисцидоз, кистозный фиброз, предимплантационное генетическое тестирование, ПГТ-М.

**Для цитирования:** Краснополянская К., Шугинин И., Сесина Н. и др. Носительство мутации муковисцидоза сквозь призму ВРТ (современное состояние проблемы) // Врач. – 2018; 29 (11): 30–33. <https://doi.org/10.29296/25877305-2018-11-05>

Муковисцидоз (МВ) – одно из часто встречающихся моногенных заболеваний в европейской популяции. Это заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу и обусловлено мутациями в гене *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembraneconductance Regulator), кодирующем трансмембранный регулятор МВ – белок, участвующий в транспорте ионов хлора через мембрану клетки. С развитием медицины все больше пациентов с носительством этого заболевания прибегают к помощи вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) как для реализации репродуктивной функции, так и для предотвращения наследования заболевания и рождения детей с МВ. К помощи ВРТ прибегают пары, в которых мужчины являются носителями мутации в гене *CFTR*, вызывающей снижение фертильности или полную стерильность у пациентов мужского пола. В этой ситуации практикуют экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) с использованием сперматозоидов, полученных из эякулята, или хирургическим путем. Эмбрионы, полученные у пары,

в которой оба супруга являются носителями заболевания, целесообразно проанализировать на мутации МВ с помощью предимплантационного генетического тестирования (ПГТ).

Ген МВ (*CFTR*) был клонирован и описан в 1989 г. [21]; это позволило диагностировать заболевание молекулярно-генетическими методами. В 1992 г. был рожден первый здоровый ребенок после доимплантационной генетической диагностики [15]. Таким образом, МВ стал первым аутосомно-рецессивным заболеванием, которое с помощью ПГТ удалось предотвратить у детей семейной пары с носительством мутантного гена.

ПГТ с определением хромосомных и генетических патологий у доимплантационных эмбрионов – один из современных методов, прочно входящих в практику ВРТ. Диагностика моногенных заболеваний у ранних эмбрионов (ПГТ-М) [30] широко применяется в мировой практике с целью профилактики рождения больных детей, в том числе и МВ [13, 14, 26].

В России применение ПГТ с целью профилактики рождения детей, больных как МВ, так и другими наследуемыми генетическими заболеваниями, применяется нечасто. Так, по данным национального регистра ВРТ Российской ассоциации репродукции человека (РАРЧ), в 2014 г. в России было проведено 2023 циклов ЭКО, сопровождающихся ПГТ; перенос эмбрионов был произведен в 1266 случаях, в результате чего наступили 524 клинические беременности, которые в 358 случаях закончились родами (необходимо отметить, что большинство случаев доимплантационной диагностики приходилось на долю ПГТ, направленного на диагностику анеуплоидий ПГТ-А) [5]. В том же 2014 г. в ходе неонатального скрининга диагноз МВ был поставлен 92 новорожденным. Всего в России зафиксированы 2092 больных МВ [6]. В 2016 г. в ходе неонатального скрининга МВ был диагностирован у 146 новорожденных, что составило 73% всех вновь выявленных случаев МВ. Всего же в регистр включены данные о 3049 больных [7].

### МУКОВИСЦИДОЗ

МВ (MIM 277180) – мультигенное генетически детерминированное заболевание, которое характеризуется поражением всех экзокринных желез жизненно важных органов и систем организма и отличается обычно тяжелым течением и прогнозом. Как уже упоминалось, заболевание обусловлено мутациями в гене *CFTR*, который кодирует белок CFTR – мембранный анионный канал для активного транспорта ионов хлора, изменения которого вызывают дефект транспорта  $Cl^-$  и  $HCO_3^-$  [29]; 50% зрелого CFTR находится в апикальной мембране эпителиальных клеток. Остальной белок CFTR сосредоточен в мембранах эндоплазматического ретикулума и аппарате Гольджи [4]. Ген *CFTR* расположен на длинном плече хромо-

сомы 7 (7q31.2), имеет протяженность около 180 kb и содержит 27 экзонов. Сегодня известно более чем 2000 различных нуклеотидных замен в гене *CFTR* ([www.CFTR2.org](http://www.CFTR2.org)).

Гомозиготность или сочетанная гетерозиготность по мутациям в гене *CFTR* может быть ассоциирована с различными проявлениями заболевания. Большинство больных (85–90%) МВ страдают от прогрессирующего обструктивного заболевания легких и недостаточности экзокринной функции поджелудочной железы. Заболевание может проявляться различной степенью тяжести течения [10].

Согласно данным национального регистра, наиболее часто встречаются следующие мутации: F508del (52,79%), CFTRdele2,3 (6,32%), p.E92K (2,65%), 2184insA (2,02%), 3849+10kbC>T (1,65%), 2143delT (1,65%), p.G542X (1,33%), p.N1303K (1,33%), p.W1282X (1,11%), L138ins (1,06%) [3].

### МУЖСКОЕ БЕСПЛОДИЕ, ВЫЗВАННОЕ МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *CFTR*

Бесплодие у мужчин с МВ впервые отмечено в 1960-х годах [11] и описано в 1968 г. [17]. Бесплодие у мужчин с МВ связано с патологией развития семявыносящих протоков или дистальной половины эпидидимиса, что приводит к азооспермии [28].

Наиболее частая мутация *CFTR* среди жителей Северной Европы – delF508 (DeltaF508, p.Phe508del), гомозиготное состояние которой приводит к клиническому проявлению МВ [27]. Мутация delF508 встречается у 24% мужчин с МВ, а в сочетании с мутацией IVS8-T5 обнаруживается у 17% больных. Сама по себе мутация IVS8-T5 вызывает только незначительную дисфункцию *CFTR* и обнаруживается в популяции у 5%. Все другие мутации встречаются довольно редко [9].

Есть также сообщения о более высокой распространенности мутаций гена *CFTR* среди здоровых мужчин, у которых наблюдается снижение качества сперматозоидов по сравнению с контролем – т.е. нормальными параметрами спермы [28]. Это может быть объяснено продемонстрированной функциональной экспрессией *CFTR* в сперматиде, что указывает на роль этого гена в сперматогенезе [8]. Предполагается также гипотеза о влиянии концентрации  $\text{HCO}_3^-$  (роль в транспортировке которого несет *CFTR*) на оплодотворяющую способность сперматозоидов [29].

У мужчин, страдающих бесплодием, вызванным аплазией семявыносящего протока, в 80% случаев обнаруживается мутация в гене *CFTR*. Зачастую у мужчин единственным признаком носительства мутации в гене *CFTR* является азооспермия или тяжелая олигозооспермия, вызванная частичной или полной обструкцией или атрофией семявыносящего протока [10]. У 20% пациентов с отсутствием или аплазией семявыносящего протока клинические проявления не связаны с изменениями в гене *CFTR* [9].

В результате исследования [31] установлено, что среди пациентов с врожденным отсутствием, атрофией или обструкцией семявыносящего протока в 78% имелась по крайней мере 1 мутация в гене *CFTR*, в 46% – 2 мутации и в 28% – только 1 мутация в гене *CFTR*. Частота аллелей F508del, IVS8-T5 и p.R117H составила соответственно 17, 25 и 3%, а генетические компаунды F508del / 5TandF508del / R117H были выявлены в соответственно 17 и 4% случаев.

Носительство МВ следует подозревать у мужчин при следующих особенностях:

- тяжелая олигозооспермия или азооспермия;
- низкий объем эякулята с определенным химическим профилем (низкий уровень pH, повышенные концентрации лимонной кислоты и кислой фосфатазы, низкая концентрация фруктозы);
- выявление аномалий семенных пузырьков или семявыносящих протоков при ректальном УЗИ.

В каждом из этих случаев или при их сочетании целесообразно проводить генетическое исследование гена *CFTR* на наличие мутаций. У детей, родившихся от отцов с отсутствием семявыносящих протоков (ОСП), вызванным мутацией гена МВ, повышен риск заболевания МВ, а у мальчиков высок риск наследования ОСП [24].

В случае сочетания у пациента носительства различных мутаций в аллельных генах *CFTR* (генетические компаунды) без клинических проявлений, как правило, сочетаются мутации, вызывающие потерю функции *CFTR*, с мутациями, при которой функция гена частично сохранена [24].

### ЖЕНСКОЕ БЕСПЛОДИЕ, ВЫЗВАННОЕ МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *CFTR*

Развитие современной медицины сделало возможным рождение детей у пациенток, больных МВ, которые ранее не доживали до репродуктивного возраста. Дети таких пациенток со 100% вероятностью наследуют родительскую мутацию, но сами в большинстве случаев не больны [1]. У пациенток с МВ беременность может наступать естественным путем, однако описано снижение фертильности. Предполагается, что это связано с повышенной вязкостью цервикальной слизи, которая не претерпевает типичных изменений во время менструального цикла из-за дефектного белка *CFTR*.

У женщин с МВ описаны многочисленные неудачные попытки внутриматочной инсеминации (ВМИ). Для объяснения этого факта была выдвинута следующая теория: для сохранения фертильности спермы в половых путях женщины необходима высокая концентрация  $\text{HCO}_3^-$ , при мутации гена МВ концентрация  $\text{HCO}_3^-$  может снижаться, что способно приводить к снижению оплодотворяющей способности сперматозоидов [29]. Также показано, что уровень антимюллерова гормона (АМГ) у пациенток с МВ ниже,

чем у женщин такого же возраста без заболевания, что свидетельствует о пониженном овариальном резерве женщин с МВ [23].

Мутации в гене у женщин также могут являться причиной задержки полового развития и аменореи [16]. У некоторых женщин с МВ не происходит овуляции. У таких пациенток обнаруживают более высокую общую концентрацию тестостерона в сыворотке и резистентность к инсулину, аналогичные наблюдаемым у женщин с синдромом поликистозных яичников [20].

Имеется предположение, что врожденное отсутствие матки и влагалища у женщин также может быть связано с мутациями в гене *CFTR*. Однако проведенный ДНК-анализ гена *CFTR* у 25 женщин с такой врожденной патологией не подтвердил этого [25].

В 2000 г. появилось сообщение о рождении первого ребенка после ЭКО у женщины с МВ [22].

#### ДИАГНОСТИКА ПРЕДИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ

ПГТ является одним из самых надежных способов предотвращения рождения детей, больных МВ. С помощью ПГД (ПГТ-М) можно установить носительство у эмбриона мутантного гена еще до его имплантации в полость матки [18]. ПГТ может проводиться только в сочетании с программой ЭКО, которая, как правило, включает в себя стимуляции суперовуляции и получение сразу нескольких ооцитов, которые в дальнейшем оплодотворяют *in vitro*. После оплодотворения эмбрион человека может развиваться вне материнского организма в течение 5–6 сут, затем он должен быть перенесен в полость матки. Дальнейшее развитие возможно только после имплантации эмбриона. Для диагностики генетических патологий необходимо исследование ДНК эмбриона, которую выделяют из единичных эмбриональных клеток, полученных с помощью биопсии. Биопсию – изъятие одной или нескольких клеток эмбриона – проводят на стадии 6–8 бластомеров (все реже) или, предпочтительнее, на стадии бластоцисты, на 5–6-е сутки культивирования. На стадии бластоцисты эмбрион насчитывает порядка 200 клеток и дифференцирован на внутриклеточную массу, дающую начало структурам зародыша, и трофэктодерму, образующую внезародышевые оболочки. Отделение 3–4 клеток трофэктодермы, необходимых для информативного и достоверного анализа ДНК, не наносит существенного урона эмбриону и практически не влияет на его способность к имплантации [19]. Так как анализ ДНК эмбрионов требует времени, чаще всего эмбрионы криоконсервируют через несколько часов после биопсии. В дальнейшем эмбрионы, анализ ДНК биоптата которых не показал наличия патологии, переносят будущей матери в одном из последующих менструальных циклов [2]. При использовании для анализа ДНК эмбриона на носительство моногенного заболевания методом полимеразной цепной реакции достоверность резуль-

тата составляет 93,7% [12]. Таким образом, с помощью применения методов ВРТ можно минимизировать риск рождения ребенка, больного МВ, в семье с носительством мутантного гена.

ВРТ имеют большие перспективы для лечения бесплодия, сопряженного с носительством мутаций в гене *CFTR*, а также для предотвращения рождения детей, больных МВ. Представляется целесообразной диагностика носительства мутаций в гене *CFTR* в случаях мужского бесплодия – как сопровождающегося полной обструкцией семявыносящих протоков, так и в других случаях нарушения сперматогенеза. При подтвержденном носительстве МВ обоими партнерами целесообразно прибегать к планированию беременности в цикле ЭКО с ПГТ-М. При планировании беременности пациентам, страдающим МВ, рекомендовано медико-генетическое консультирование с целью определения целесообразности самостоятельной беременности или возможности применения ВРТ для рождения здорового ребенка.

Таким образом, при мужском и женском бесплодии неизвестной этиологии целесообразно применять ДНК-анализ гена *CFTR*.

\* \* \*

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

#### Литература

1. Амелина Е.Л., Красовский С.А., Шугинин И.О. Муковисцидоз и беременность: клинико-генетические, функциональные и микробиологические характеристики пациенток // Педиатрия. – 2014; 93 (4): 38–43.
2. Базанов П.А., Митюшина Н.Г., Юткин Е.В. и др. Оптимизация ведения пациентов при выполнении преимплантационной генетической диагностики // Вестник РУДН (Сер.: Медицина). – 2013; 5: 97–102.
3. Кистозный фиброз (муковисцидоз) у детей. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2016.
4. Орлов А.В., Симонова О.И., Рославцева Е.А. и др. Муковисцидоз (клиническая картина, диагностика, лечение, реабилитация, диспансеризация) / СПб: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2012.
5. Российская ассоциация репродукции человека. Регистр ВРТ. 20-й юбилейный отчет за 2014 год / СПб, 2016. [www.rarh.ru](http://www.rarh.ru)
6. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2014 г. / М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2015; 64 с.
7. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2016 г. / М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2018; 64 с.
8. Choi J., Muallem D., Kiselyov K. et al. Aberrant CFTR-dependent HCO<sub>3</sub> transport in mutations associated with cystic fibrosis // Nature. – 2001; 410: 94–7.
9. Claustres M. Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility // *Reprod. Biomed. Online*. – 2005; 10 (1): 14–41.
10. de Souza D., Fauz F., Pereira-Ferrari L. et al. Congenital bilateral absence of the vas deferens as an atypical form of cystic fibrosis: reproductive implications and genetic counseling // *Andrology*. – 2018; 6 (1): 127–35. DOI: 10.1111/andr.12450.
11. Denning C., Sommers S., Quigley H. Jr. Infertility in male patients with cystic fibrosis // *Pediatrics*. – 1968; 41 (1): 7–17.
12. Dreesen J., Destouni A., Kourlaba G. et al. Evaluation of PCR-based preimplantation genetic diagnosis applied to monogenic diseases: a collaborative ESHRE PGD consortium study // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2014; 22 (8): 1012–8. DOI: 10.1038/ejhg.2013.277.
13. Field P., Martin N. CFTR mutation screening in an assisted reproductive clinic // *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* – 2011; 51 (6): 536–9. DOI: 10.1111/j.1479-828X.2011.01348.x.

14. Girardet A., Ishmukhametova A., Willems M. et al. Preimplantation genetic diagnosis for cystic fibrosis: the Montpellier center's 10-year experience // *Clin. Genet.* – 2015; 87 (2): 124–32. DOI: 10.1111/cge.12411.
15. Handyside A., Lesko J., Tarin J. et al. Birth of a normal girl after in vitro fertilization and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis // *N. Engl. J. Med.* – 1992; 327 (13): 905–9.
16. Josserand R., Bey-Omar F., Rollet J. et al. Cystic fibrosis phenotype evaluation and paternity outcome in 50 males with congenital bilateral absence of vas deferens // *Hum. Reprod.* – 2001; 16 (10): 2093–7.
17. Kaplan E., Shwachman H., Perlmutter A. et al. Reproductive failure in males with cystic fibrosis // *N. Engl. J. Med.* – 1968; 279: 65–9.
18. Kuliev A., Verlinsky Y. Place of preimplantation diagnosis in genetic practice // *Am. J. Med. Genet.* – 2005; 134 (1): 105–10.
19. Mastenbroek S., Twisk M., van Echten-Arends J. et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic screening // *N. Engl. J. Med.* – 2007; 357: 9–17.
20. Radpour R., Gourabi H., Dizaj A. et al. Genetic investigations of CFTR mutations in congenital absence of vas deferens, uterus, and vagina as a cause of infertility // *J. Androl.* – 2008; 29 (5): 506–13. DOI: 10.2164/jandrol.108.005074.
21. Riordan J., Rommens J., Kerem B. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA // *Science.* – 1989; 245 (4922): 1066–73.
22. Rodgers H., Knox A., Toplis P. et al. Successful pregnancy and birth after IVF in a woman with cystic fibrosis // *Hum. Reprod.* – 2000; 15 (10): 2152–3.
23. Schram C., Stephenson A., Hannam T. et al. Cystic fibrosis (cf) and ovarian reserve: A cross-sectional study examining serum anti-mullerian hormone (amh) in young women // *Cyst. Fibros.* – 2015; 14 (3): 398–402. DOI: 10.1016/j.jcf.2014.09.008.
24. Thida Ong, Marshall S., Karczeski B. et al. Cystic Fibrosis and Congenital Absence of the Vas Deferens GeneReviews® [Internet]. Initial Posting: March 26, 2001; Last Update: February 2, 2017.
25. Timmreck L., Gray M., Handelin B. et al. Analysis of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations in patients with congenital absence of the uterus and vagina // *Am. J. Med. Genet.* – 2003; 120 A(1): 72–6.
26. Tur-Kaspa I., Aljadef G., Rechitsky S. et al. PGD for all cystic fibrosis carrier couples: novel strategy for preventive medicine and cost analysis // *Reprod. Biomed. Online.* – 2010; 21 (2): 186–95. DOI: 10.1016/j.rbmo.2010.04.031.
27. Uzun S., Gökçe S., Wagner K. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations in infertile males with congenital bilateral absence of the vas deferens // *Tohoku J. Exp. Med.* – 2005; 207 (4): 279–85.
28. van der Ven K., Messer L., van der Ven H. et al. Cystic fibrosis mutation screening in healthy men with reduced sperm quality // *Hum. Reprod.* – 1996; 11 (3): 513–7.
29. Wang X., Zhou C., Shi Q. et al. Involvement of CFTR in uterine bicarbonate secretion and the fertilizing capacity of sperm // *Nat. Cell Biol.* – 2003; 5: 902–6.
30. Zegers-Hochschild F., Adamson G., Dyer S. et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care // *Hum. Reprod.* – 2017; 32 (9): 1786–801. DOI: 10.1093/humrep/dex234.
31. Yu J., Chen Z., Ni Y. et al. CFTR mutations in men with congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD): a systemic review and meta-analysis // *Hum. Reprod.* – 2012; 27 (1): 25–35. DOI: 10.1093/humrep/der377.

## **CARRIAGE OF CYSTIC FIBROSIS MUTATION THROUGH THE PRISM OF ART (THE CURRENT STATE OF THE PROBLEM)**

*Professor K. Krasnopolskaya<sup>1</sup>, MD; I. Shuginin<sup>1</sup>, MD; N. Sesina<sup>3</sup>, E. Voskoboeva<sup>2,4</sup>; A. Beketova<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Moscow*

<sup>2</sup>*Medical Genetic Research Center, Moscow*

<sup>3</sup>*Semiya (Family) International Clinic, Moscow*

<sup>4</sup>*Genlab Clinical and Diagnostic Laboratory of Human Reproduction, Moscow*

*Cystic fibrosis is one of the most common monogenic diseases in the European population. The paper considers the possibilities of current reproductive technologies to prevent the inheritance of the cystic fibrosis gene in the children of patients with different types of monogenic disease.*

**Key words:** *genetics, obstetrics and gynecology, cystic fibrosis, preimplantation genetic testing, PGT-M.*

**For citation:** *Krasnopolskaya K., Shuginin I., Sesina N. et al. Carriage of cystic fibrosis mutation through the prism of ART (the current state of the problem) // Vrach. – 2018; 29 (11): 30–33. <https://doi.org/10.29296/25877305-2018-11-05>*