

Вспомогательная репродукция человека и болезни геномного импринтинга (обзор литературы)

Д.А. ИСАЕВ^{1,2}, В.В. ЗАЕВА¹, А.И. БОЛТ², О.Ю. ВОЛОДИНА³

¹Медицинская клиника репродукции «МА-МА» (isaev@ma-ma.ru); ²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва;

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Условия культивирования, манипуляции *in vitro* с гаметами и ранними зародышами могут приводить к нарушениям геномного импринтинга — эпигенетического механизма, обеспечивающего в эмбриогенезе млекопитающих дифференциальную экспрессию определенных генов в зависимости от их родительского происхождения. Значительное число генетических болезней, таких как синдромы Ангельмана, Прадера—Вилли, Беквита—Видемана, опухоль Вильмса, гепатобластома, рабдомиосаркома, и т.д., связано с нарушением геномного импринтинга. В настоящем обзоре рассмотрены факторы, способные привести к развитию болезней геномного импринтинга при осуществлении вспомогательной репродукции.

Ключевые слова: геномный импринтинг, эпигенетические модификации, ВРТ.

Геномный импринтинг

Геномным импринтингом (от англ. *imprint* — отпечаток, запечатление) называется феномен дифференциальной экспрессии аллелей генов в зависимости от их родительского происхождения [1]. Геномный импринтинг не затрагивает первичной структуры ДНК и осуществляется путем обратимых эпигенетических модификаций родительских аллелей.

Заимствованный из науки о поведении животных (этологии) термин «импринтинг» был использован в 1960 г. Н. Crouse [2] для описания поведения половых хромосом у мушки из рода *Sciara*. В 1971 г. термин был использован D. Cooper [3] для феномена избирательной инактивации отцовской X-хромосомы у сумчатых млекопитающих. В настоящее время благодаря работам M. Surani и других исследователей теория геномного импринтинга является общепризнанной [4—8].

Гены, аллели которых в онтогенезе проявляют функциональные различия в зависимости от их родительского происхождения, называются импринтированными. По различным источникам, у человека известно около 80 импринтированных генов и локусов на 13 хромосомах, которые играют исключительно важную роль в процессах эмбрионального развития и тканевой дифференцировки.

Импринтингование аллелей связано с метилированием цитозиновых оснований в CpG-динуклеотидах ключевых регуляторных элементов гена [9—11]. Почти все импринтированные гены имеют CpG-насыщенные дифференциально метилированные регионы, обозначаемые как DMRs (англ. — *differentially methylated regions*).

В результате оплодотворения в зиготе объединяются два гаплоидных родительских набора хромосом, имеющие установленные в процессе гаметогенеза посредством метилирования DMRs характерные эпигенетические маркеры — импринты. В ходе развития организма в соматических клетках происходит репрограммирование установленных импринтов (рис. 1). В клет-

ках зародышевого пути эти импринты сохраняются, но в процессе сперматогенеза или оогенеза стираются, и к моменту созревания гамет устанавливаются *de novo* [13].

Метилирование DMRs обычно связано с репрессией аллеля [14], поэтому часто понятие «импринтированный» ген/аллель употребляют в значении «репрессированный, молчщий», что не вполне верно, поскольку некоторые импринтированные гены имеют метилированные DMRs в активном аллеле [15]. Во

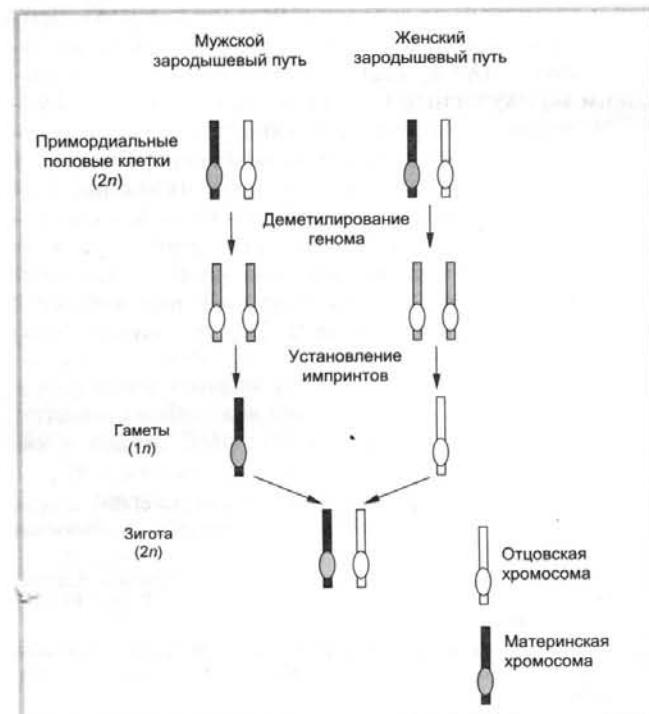


Рис. 1. Репрограммирование родительских импринтов в зародышевом пути.

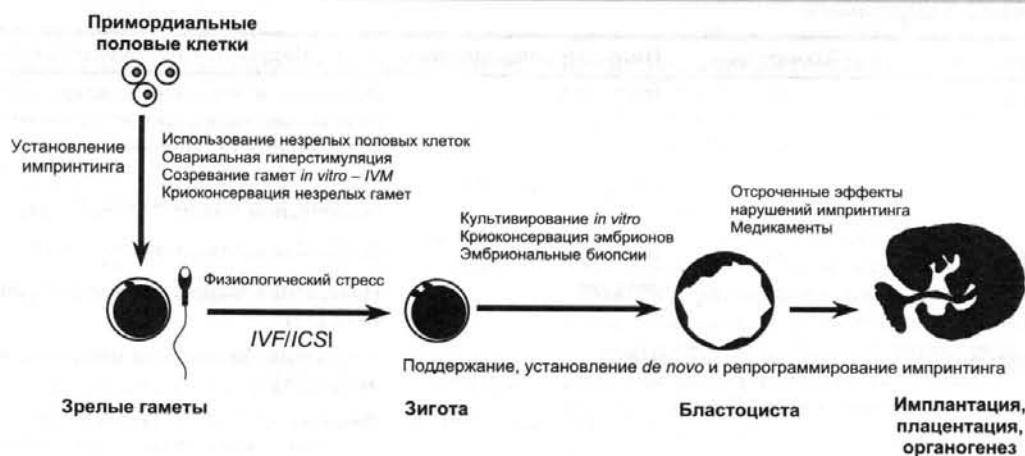


Рис. 2. Возможные факторы нарушений геномного импринтинга на различных стадиях онтогенеза и соответствующих этапах вспомогательной репродукции [25, 26].

избежание недоразумений, Т. Kaneko-Ishino и соавт. для обозначения экспрессивного статуса родительских аллелей импринтированных генов предлагают употреблять термины «отцовски экспрессирующиеся гены» — *pegs* (англ. — *paternally expressed genes*) и «матерински экспрессирующиеся гены» — *megs* (англ. — *maternally expressed genes*) [16].

Экспрессия импринтированных генов может иметь ткане- и стадиоспецифичный характер. Более того, моноаллельная экспрессия импринтированного гена может не являться абсолютной, так что в действительности устанавливается широкий спектр относительной экспрессии импринтированных родительских аллелей от строго моноаллельной до биаллельной [17].

Теоретический и практический интерес к геному импринтингу усиливается по мере получения новых данных, и ему посвящено значительное количество экспериментальных и обзорно-теоретических работ [1, 18–24]. Во всемирной компьютерной сети Интернет существуют сайты, посвященные геному импринтингу (напр., <http://www.geneimprint.com>).

Для врачей-репродуктологов и эмбриологов, работающих в области вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), геномный импринтинг интересен и важен прежде всего тем, что его правильное установление и поддержание в развитии могут быть нарушены под влиянием внешних факторов, сопутствующих выполнению манипуляций *in vitro* с гаметами и ранними эмбрионами вне организма (рис. 2).

Болезни геномного импринтинга

С самого начала становления теории геномного импринтинга с его нарушениями связывали возможное развитие генетических болезней [27]. В настоящее время известно значительное число таких генетических болезней, которые выделяют в отдельный класс — болезни геномного импринтинга (БГИ) [28, 29]. В отечественной научной и научно-медицинской литературе также неоднократно обращалось внимание на роль геномного импринтинга в развитии наследственных патологий человека [20, 30, 31]. Наиболее извест-

ные БГИ и соответствующие генетические или эпигенетические нарушения приведены в таблице.

БГИ могут быть вызваны однородительскими дисомиями, делециями или иными мутациями, приводящими к нарушению функционирования импринтированных генов. В этих случаях происходят изменения, иногда значительные, в первичной структуре хроматина, сходные в своей мутагенной основе с другими наследственными болезнями. Эти мутации могут являться предметом генетической диагностики, в том числе и преимплантационной.

Другой причиной возникновения БГИ могут быть эпигенетические нарушения экспрессии импринтированных генов под воздействием экзогенных факторов без изменения первичной структуры хроматина. Такие эпигенетические модификации имеют непосредственное отношение к осуществлению манипуляций с гаметами и эмбрионами вне организма. Задача будущих исследований в данной области состоит в выявлении молекулярно-генетических механизмов и конкретных индуцирующих БГИ факторов.

Факторы и механизмы нарушения геномного импринтинга

Условия культивирования эмбрионов *in vitro* могут приводить к нарушениям экспрессии импринтированных генов [41, 42]. Такие нарушения прежде всего вызваны потерей родительских импринтов в результате деметилирования регуляторных элементов этих генов. Деметилирование обычно приводит к дерепрессии молчашего аллеля и повышению уровня его экспрессии, но из-за сложной системы регуляции активности импринтированных генов потеря метильных импринтов может приводить к снижению экспрессии как импринтированных, так и других генов.

У человека и мыши в эмбриогенезе экспрессируется только материнский аллель импринтированного гена *H19*, кодирующего нетранслируемую РНК. Экспрессия материнского аллеля *H19* необходима для подавления экспрессии в *цис*-положении другого импринтированного у большинства млекопитающих гена

Болезни геномного импринтинга

Болезнь	Хромосома	Импринтированные гены	Нарушения геномного импринтинга
Синдром Беквита — Видемана	11	<i>IGF2, H19</i>	Отцовская изодисомия кластера 11p15,5 или подавление экспрессии материнского аллеля <i>H19</i> в результате метилирования [32]
Опухоль Вильмса	11	<i>IGF2, IGF2AS, H19</i>	Нарушения импринтинга, приводящие к биалльной экспрессии <i>IGF2</i> [33]
Гемигиперплазия	11	<i>IGF2</i>	Отцовская изодисомия кластера 11p15,5 [34]
Гепатобластома	11	<i>P57KIP2</i>	Подавление экспрессии материнского аллеля <i>KIP2</i> [35]
Гипофизарная аденома	14	<i>MEG3</i>	Подавление экспрессии материнского аллеля <i>MEG3</i> [36]
Синдром Ангельмана	15	<i>SNURF-SNRPN, UBE3A</i>	Делеция кластера 15q11-q13 материнской, дисомия отцовской хромосомы 15-й; точковая мутация активного аллеля или мутация импринтингового центра [37, 38]
Синдром Прадера—Вилли	15	<i>SNURF-SNRPN, PARI, PARS, PAR-SN</i>	Микроделеция кластера 15q11,2-q13 отцовской хромосомы или изодисомия материнской хромосомы 15 [39, 40]

Igf2, который кодирует инсулиноподобный ростовой фактор 2, материнский аллель которого, таким образом, не экспрессируется [43—46].

A. Doherty и соавт. установили, что при культивировании ранних зародышей мыши в среде Виттена происходит активация отцовского импринтированного аллеля гена *H19*, в то время как при культивировании эмбрионов в оптимизированной среде *KSOM* с добавлением аминокислот поддерживается характерная для развития *in vivo* нормальная моноалльельная материнская экспрессия этого гена. Дерепрессия отцовского аллеля при культивировании эмбрионов в среде Виттена была обусловлена деметилированием ключевых регуляторных элементов гена *H19*. Поскольку в этих условиях не происходило нарушения импринтинга других генов, например *Snrpn*, а также снижения активности ДНК-метилтрансферазы I, авторы полагают, что такое деметилирование *H19* может быть специфической реакцией на различный состав сред. Потеря импринтинга *H19* приводит к снижению экспрессии *Igf2* и, как следствие, к задержке и нарушениям развития [47].

Ранее в работе Y. Ho и соавт. было показано, что присутствие в культуральной среде *KSOM* как существенных, так и несущественных аминокислот необходимо для обеспечения наиболее близкого к *in vivo* профиля экспрессии многих важных для развития генов, в том числе и импринтированных [48].

Культивирование ранних эмбрионов мыши в среде *M16* с добавлением 5% и 10% фетальной сыворотки телят также нарушает экспрессию импринтированных генов *H19*, *Igf2*, *Grb10* и *Grb7* [41]. Изучая развитие партеногенетических зародышей мыши, Л.И. Пенков и соавт. установили, что экзогенные ростовые факторы способны модулировать эффекты геномного импринтинга, очевидно, за счет изменения экспрессии импринтированных генов [49—51].

M. Mann и соавт. полагают, что некоторые импринтированные гены, такие как *Snrpn* и *Peg3* у мыши,

более устойчивы к эпигенетическим нарушениям, в то время как другие гены, например, *H19* и *Igf2*, легко подвергаются нарушениям родительского импринтинга, в особенности в производных трофэктодермы [52].

Импринтинг и ВРТ

С конца 80-х годов XX века здоровые дети, рожденные с применением ВРТ, является предметом непрерывных дебатов в научно-медицинской среде [53]. В последние несколько лет эта проблема обострилась в связи с накоплением и публикацией данных о состоянии здоровья таких детей и связанными с этим медико-генетическими исследованиями.

По данным американских исследователей, рожденные с применением ВРТ дети (однoplодная беременность) имели низкую или очень низкую массу при рождении в 2,6 раза чаще, чем при самостоятельной репродукции. Эти исследования показали, что повышенный риск низкой массы при рождении связан исключительно с ВРТ, а не возрастными и иными различиями в двух выборках [54]. Одной из возможных причин задержки фетального роста и соответственно низкой массы при рождении может быть недостаточная экспрессия *IGF2* вследствие деметилирования отцовского аллеля *H19*, однако такие исследования не проводились.

Исследования трех групп ученых из США, Великобритании и Франции показали, что относительный риск развития синдрома Беквита—Видемана достоверно выше в ~3 раза (Франция), ~4 раза (Великобритания) и ~6 раз (США) по сравнению с общей выборкой. Почти во всех случаях синдром был вызван нарушением импринтинга дифференциально метилированного региона *KvDMR* материнского аллеля гена *KCNQ1B* [55—57].

На возможную связь ВРТ с возникновением синдрома Ангельмана указывают сообщение G. Cox и соавт. о двух детях [58] и сообщение K. Orstavik и соавт.

еще об одном ребенке [59], рожденных в результате ICSI. У этих трех детей развитие синдрома было вызвано полной или частичной потерей метилирования материнского аллеля гена *SNRPN*.

Группа датских исследователей сообщает о 5 случаях ретинобластомы у детей, рожденных при помощи ВРТ [60].

По мнению Е. Maher и соавт., ВРТ могут быть причиной еще очень многих неизвестных нарушений геномного импринтинга, способных вызывать долговременные негативные эффекты [61].

Заключение

При обсуждении проблемы риска БГИ в результате вспомогательной репродукции следует учитывать, что многие индуцируемые внешними факторами эпигенетические нарушения не имеют отношения к геномному импринтингу, а сниженные показатели здоровья детей, рожденных с применением ВРТ, могут определяться другими генетическими или физиологическими факторами, сопутствующими вспомогательной репродукции. Кроме того, мутации импринтированных ло-

кусов, не имеющие отношения к собственно ВРТ, являются клиническую картину БГИ, возникающих также вследствие эпигенетических, а не мутационных изменений. Поскольку нарушения работы импринтированных генов препятствуют естественной репродукции, это также может быть причиной более высокой частоты БГИ среди пациентов клиник ЭКО и соответственно рожденных с применением ВРТ детей.

В то же время есть веские основания полагать, что возникновение БГИ может быть связано с применением ВРТ: экспрессия некоторых импринтированных генов подвержена воздействию экзогенных факторов при осуществлении манипуляций *in vitro* с гаметами и ранними эмбрионами; БГИ у детей, рожденных с применением ВРТ, часто имеют эпигенетическую, а не мутационную природу. Данные экспериментальных исследований геномного импринтинга на модельных объектах и медико-генетических исследований БГИ у человека должны необходимым образом учитываться при разработке и внедрении новых ВРТ, в том числе культуральных сред, систем культивирования, технологий криоконсервации и IVM.

ЛИТЕРАТУРА

- Wrzeska M., Rejduch B. Genomic imprinting in mammals. *J Appl Genet* 2004; 45: 427–433.
- Crouse H.W. The controlling element in sex chromosome behaviour in *Sciaridae*. *Genetics* 1960; 45: 1429–1443.
- Cooper D.W. Directed genetic change model for X-chromosome inactivation in eutherian mammals. *Nature* 1971; 230: 292–294.
- Surani M.A.H., Barton S.C. Development of gynogenetic eggs in the mouse: implications for parthenogenetic embryos. *Science* 1983; 222: 1034–1036.
- Surani M.A.H., Barton S.C., Norris M.L. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* 1984; 308: 548–550.
- McGrath J., Solter D. Nuclear transplantation in mouse embryos. *J Exp Zool* 1983; 228: 355–362.
- McGrath J., Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* 1984; 7: 179–183.
- Surani M.A.H. Genomic imprinting: developmental significance and molecular mechanism. *Curr Opin Genet Dev* 1991; 1: 241–246.
- Cedar H. DNA methylation and gene activity. *Cell* 1988; 53: 3–4.
- Surani M.A.H., Kothary R., Allen N.D. et al. Genome imprinting and development in the mouse. *Development* 1990; 110 (Suppl): 89–98.
- Razin A., Cedar H. DNA methylation and genomic imprinting. *Cell* 1994; 77: 473–476.
- Rakyan V.K., Preis J., Morgan H.D., Whitelaw E. The marks, mechanisms and memory of epigenetic states in mammals. *Biochem J* 2001; 356: 1–10.
- Mann J.R. Imprinting in the germ line. *Stem Cells* 2001; 19: 287–294.
- Bird A.P., Wolfe A.P. Methylation-induced repression — belts, braces, and chromatin. *Cell* 1999; 99: 451–454.
- Reik W., Walter J. Evolution of imprinting mechanisms: the battle of sexes begins in the zygote. *Nat Genet* 2001; 27: 255–256.
- Kaneko-Ishino T., Kohda T., Ishino F. The regulation and biological significance of genomic imprinting in mammals. *J Biochem (Tokyo)* 2003; 133: 699–711.
- Barlow D.P. Competition — a common motif for the imprinting mechanism. *EMBO J* 1997; 16: 6899–6905.
- Bartolomei M.S., Tilghman S.M. Genomic imprinting in mammals. *Ann Rev Genet* 1997; 31: 493–525.
- Solter D. Imprinting. *Int J Dev Biol* 1998; 42: 951–954.
- Конюхов Б.В., Платонов Е.С. Геномный импринтинг у млекопитающих. *Генетика* 2001; 37(4): 5–17.
- Arney K.L., Erhardt S., Dredge R.A., Surani M.A.H. Epigenetic reprogramming of the genome — from the germ line to the embryo and back again. *Int J Dev Biol* 2001; 45: 533–540.
- Li E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 662–673.
- Recillas-Targa F. DNA methylation, chromatin boundaries, and mechanisms of genomic imprinting. *Arch Med Res* 2002; 33: 428–438.
- Sleutels F., Barlow D.P. The origins of genomic imprinting in mammals. *Adv Genet* 2002; 46: 119–163.
- DeRycke M., Liebaers I., Van Steirteghem A. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: risk analysis and epigenetic inheritance. *Hum Reprod* 2002; 17: 2487–2494.
- Paoloni-Giacobino A., Chaillet J.R. Genomic imprinting and assisted reproduction. *Reprod Health* 2004; 1: 1–7.
- Reik W. Genomic imprinting and genetic disorders in man. *Trends Genet* 1989; 5: 331–336.
- Пузырев В.П. Вольности генома и медицинская патогенетика. *Бюллетень сибирской медицины* 2002; 2: 16–29.
- Clayton-Smith J. Genomic imprinting as a cause of disease. *BMJ* 2003; 327: 1121–1122.
- Шинин В.В., Зорин С.А. Роль геномного импринтинга и метилирования ДНК в наследственной патологии человека. *Медицинский научный и учебно-методический журнал* 2001; 4: 101–103.
- Назаренко С.А. Нарушение эпигенетической регуляции активности генов и болезни человека. *Вестн РАМН* 2001; 10: 43–48.
- Wecksberg R., Smith A.C., Squire J., Sadowski P. Beckwith-Wiedemann syndrome demonstrates a role for epigenetic control of normal development. *Hum Mol Genet* 2003; 12 Spec No 1: R61–R68.
- Vu T.H., Chuyen N.V., Li T., Hoffman A.R. Loss of imprinting of IGF2 sense and antisense transcripts in Wilms' tumor. *Cancer Res* 2003; 63: 1900–1905.
- Hoyme H.E., Seaver L.H., Jones K.L. et al. Isolated hemihyperplasia (hemihypertrophy): report of a prospective multicenter study of the incidence of neoplasia and review. *Am J Med Genet* 1998; 79: 274–278.
- Hartmann W., Waha A., Koch A. et al. P57(KIP2) is not mutated in hepatoblastoma but shows increased transcriptional activity in a

- comparative analysis of the three imprinted genes p57(KIP2), IGF2, and H19. Am J Pathol 2000; 157: 1393–1403.
36. Zhang Z., Zhou Y., Mehta K.R. et al. A pituitary — derived MEG3 isoform functions as a growth suppressor in tumor cells. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88: 5119–5126.
 37. Farber C., Dittrich B., Buiting K., Horsthemke B. The chromosome 15 imprinting centre (IC) region has undergone multiple duplication events and contains an upstream exon of SNRPN that is deleted in all Angelman syndrome patients with an IC microdeletion. Hum Mol Genet 1999; 8: 337–343.
 38. Berry R.J., Leither R.P., Clarke A.R. et al. Behavioral aspects of Angelman syndrome: A case control study. Am J Med Genet 2005; 132A: 8–12.
 39. Varela M., Kok F., Setian N. et al. Impact of molecular mechanisms, including deletion size, on Prader—Willi syndrome phenotype: study of 75 patients. Clin Genet 2005; 67: 47–52.
 40. Watrin F., Le Meur E., Roeckel N. et al. The Prader—Willi syndrome imprinting center is not involved in the spatio-temporal transcriptional regulation of the Necdin gene. BMC Genet 2005; 6: 1.
 41. Khosla S., Dean W., Brown D., Reik W., Feil R. Culture of preimplantation mouse embryos affects fetal development and the expression of imprinted genes. Biol Reprod 2001; 64: 918–926.
 42. Khosla S., Dean W., Reik W., Feil R. Culture of preimplantation embryos and its long-term effects on gene expression and phenotype. Hum Reprod Update 2001; 7: 419–427.
 43. Bartolomei M.S., Zemel S., Tilghman S.M. Parental imprinting of the mouse H19 gene. Nature 1991; 351: 153–155.
 44. Rachmiliwitz J., Goshen R., Ariel I. et al. Parental imprinting of the human H19 gene. FEBS Lett 1992; 309: 25–28.
 45. Zhang Y., Tycko B. Monoallelic expression of the human H19 gene. Nat Genet 1992; 1: 40–44.
 46. Rainier S., Johnson L.A., Dobry C.J. et al. Relaxation of imprinted genes in human cancer. Nature 1993; 362: 747–749.
 47. Doherty A.S., Mann M.R., Tremblay K.D. et al. Differential effects of culture on imprinted H19 expression in the preimplantation mouse embryo. Biol Reprod 2000; 62: 1526–1535.
 48. Ho Y., Wigglesworth K., Eppig J.J., Schultz R.M. Preimplantation development of mouse embryos in KSOM: augmentation by amino acids and analysis of gene expression. Mol Reprod Dev 1995; 41: 232–238.
 49. Пенков Л.И., Платонов Е.С. Ультросер-Г и 5-азаситидин пролонгируют развитие партеногенетических зародышей мышей. Онтогенез 1997; 28: 2: 138–144.
 50. Пенков Л.И., Платонов Е.С. Влияние факторов роста фибробластов (ФРФ-2, ФРФ-4) на развитие партеногенетических эмбрионов мышей. Онтогенез 1999; 30: 6: 448–452.
 51. Penkov L.I., Platonov E.S., New D.A. Effects of fibroblast growth factor 2 and insulin-like growth factor II on the development of parthenogenetic mouse embryos in vitro. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2001; 37: 440–444.
 52. Mann M.R., Lee S.S., Doherty A.S. et al. Selective loss of imprinting in the placenta following preimplantation development in culture. Development 2004; 131: 3727–3735.
 53. Barlow D.H. The children of assisted reproduction — the need for an ongoing debate. Hum Reprod 2002; 17: 1133–1134.
 54. Schieve L.A., Meikle S.F., Ferre C. et al. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. N Engl J Med 2002; 346: 731–737.
 55. DeBaun M.R., Niemitz E.L., Feinberg A.P. Association of in vitro fertilization with Beckwith—Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. Am J Hum Genet 2003; 72: 156–160.
 56. Gicquel C., Gaston V., Mandelbaum J. et al. In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith—Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCN1OT gene. Am J Hum Genet 2003; 72: 1338–1341.
 57. Maher E.R., Brueeton L.A., Bowdin S.C. et al. Beckwith—Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART). J Med Genet 2003; 40: 62–64.
 58. Cox G.F., Burger J., Lip V. et al. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. Am J Hum Genet 2002; 71: 162–164.
 59. Orstavik K.H., Eiklid K., van der Hagen C.B. et al. Another case of imprinting defect in a girl with Angelman syndrome who was conceived by intracytoplasmic semen injection. Am J Hum Genet 2003; 72: 218–219.
 60. Moll A.C., Imhof S.M., Cruysberg J.R. et al. Incidence of retinoblastoma in children born after in-vitro fertilization. Lancet 2003; 361: 309–310.
 61. Maher E.R., Afnan M., Barratt C.L. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: epigenetics, imprinting, ART and icebergs? Hum Reprod 2003; 18: 2508–2511.

* * *

НОВОСТИ МЕДИЦИНЫ

Преимплантационная генетическая диагностика с целью определения резус-фактора эмбриона

Австралийские врачи из университета Сиднея впервые использовали ПГД с целью отбора эмбрионов с отрицательным резус-фактором и предотвращения резус-конфликта у женщины, ранее родившей ребенка с тяжелой гемолитической болезнью. После проведения ПГД и переноса резус-отрицательного эмбриона у пациентки родилась здоровая девочка. Исследователи считают, что ПГД является единственным методом, позволяющим родить здорового ребенка супружеской паре с тяжелым резус-конфликтом в анамнезе.

По материалам Интернета подготовила А. Смирнова