

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

акушерство гинекология

4 /2015

■ Сухих Г.Т., Каретникова Н.А.,
Баранова Е.Е., Шубина Е.С.,
Коростин Д.О., Екимов А.Н.,
Парсаданян Н.Г., Гус А.И.,
Бахарев В.А., Трофимов Д.Ю.,
Воеводин С.М., Тетруашвили Н.К.
Неинвазивная пренатальная
диагностика анеуплоидий методом
высокопроизводительного
секвенирования (NGS) в группе
женщин высокого риска

■ Савельева Г.М., Шалина Р.И.,
Смирнова А.А., Кунях Ж.Ю.,
Евстратова О.П., Симухина М.А.
Асфиксия доношенных новорожден-
ных. Комплексная терапия с исполь-
зованием краинокраниальной гипо-
термии

Scientifically-practical magazine **AND**
OBSTETRICS AND
GYNECOLOGY

■ Sukhikh G.T., Karetnikova N.A.,
Baranova E.E., Shubina E.S.,
Korostin D.O., Ekimov A.N.,
Parsadanyan N.G., Gus A.I.,
Bakharev V.A., Trofimov D.Yu.,
Voevodin S.M., Tetruashvili N.K.
Noninvasive prenatal diagnosis
of aneuploidies by next-generation
sequencing (NGS) in a group
of high-risk women

■ Savelyeva G.M., Shalina R.I.,
Smirnova A.A., Kunyakh Zh.Yu.,
Evstratova O.P., Simukhina M.A.
Asphyxia in full-term newborn
infants: Combination therapy using
craniocerebral hypothermia



© Коллектив авторов, 2015

Д.А. ХАЧАТУРЯН, В.Ю. СМОЛЬНИКОВА,
О.В. БУРМЕНСКАЯ, А.Е. ДОННИКОВ, О.С. НЕПША

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В СЛИЗИСТОЙ ВЛАГАЛИЩА КАК ПРЕДИКТОР ИСХОДА ПРОГРАММЫ ЭКО И ПЭ

ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова
Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования. Определение клинической значимости экспрессионного профиля клеток слизистой оболочки влагалища, как предиктора исхода программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Материал и методы. В исследование были включены 67 пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. В зависимости от исходов программы ЭКО пациентки были разделены на две группы: I – (n=30) – женщины, у которых наступила «биохимическая» беременность (имплантация), II – (n=37) – пациентки с отрицательным результатом. Забор биологического материала (соскоб отделяемого слизистой оболочки влагалища) проводили в день переноса эмбриона в полость матки. Была проанализирована экспрессия mRNA 13 генов: 6 цитокинов ($IL1\beta$, $IL8$, $IL10$, $IL18$, $TNF\alpha$, $TGF\beta1$), 3 транскрипционных факторов ($TBX21$, $GATA3$, $RORC2$), 2 толл-подобных рецепторов ($TLR2$, $TLR4$) и 2 поверхностных маркеров клеток иммунной системы ($CD45$, $CD68$).

Результаты. Среди пациенток, у которых наступила имплантация статистически значимо реже наблюдали экспрессионный профиль, соответствующий локальному воспалению (16,7% против 43,2%). Для успешной имплантации отношение шансов составило 0,26 (0,08-0,82, $p=0,02$) при наличии молекулярно-генетических признаков локального воспаления.

Заключение. Локальная воспалительная реакция является неблагоприятным прогностическим критерием для имплантации в программе ЭКО. Исследование профиля экспрессии генов цитокинов в слизистой влагалища является перспективным направлением неинвазивной диагностики и может быть использовано для индивидуализации тактики ведения пациенток в программе ЭКО.

Ключевые слова: имплантация, экспрессия mRNA-генов, ЭКО, слизистая оболочка влагалища.

Работа частично поддержана соглашением о предоставлении субсидии № 14.607.21.0019
от 5 июня 2014 г. Минобрнауки России.

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Для цитирования: Хачатурян Д.А., Смольникова В.Ю., Бурменская О.В.,
Донников А.Е., Непша О.С. Провоспалительный профиль экспрессии генов
врожденного иммунитета в слизистой влагалища как предиктор исхода
программы ЭКО и ПЭ. Акушерство и гинекология. 2015; 4: 50-55.

D.A. KHACHATURYAN, V.YU. SMOLNIKOVA,
O.V. BURMENSKAYA, A.E. DONNIKOV, O.S. NEPSHA

PROINFLAMMATORY GENE EXPRESSION PROFILE OF INNATE IMMUNITY IN THE VAGINAL MUCOSA AS A PREDICTOR OF THE OUTCOME OF AN IN VITRO FERTILIZATION AND EMBRYO TRANSFER PROGRAM

Academician V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology,
Ministry of Health of Russia, Moscow 117997, Ac. Oparina str. 4, Russia

Objective. To estimate the clinical significance of the expression profile of vaginal mucosal cells as a predictor of the outcome of an in vitro fertilization (IVF) program.

Subjects and methods. The investigation enrolled 67 patients with tuboperitoneal factor infertility. According to the outcomes of the IVF program, the patients were divided into two groups: 1) 30 women in whom biochemical pregnancy (implantation) had occurred; 2) 37 patients with a negative result. Biological material sampling (vaginal mucosal discharge scraping) was carried out on the day of embryo transfer into the uterine cavity. The expression of mRNA of 13 genes, including 6 cytokines ($IL-1\beta$, $IL-8$, $IL-10$, $IL-18$, $TNF-\alpha$, and $TGF-\beta1$), 3 transcriptional markers ($TBX21$, $GATA3$, and $RORC2$), 2-toll-like receptors ($TLR2$, $TLR4$), and 2 immune system cell surface markers ($CD45$, $CD68$), was analyzed.

Results. The patients in whom implantation had occurred were statistically significantly less often observed to have the expression profile corresponding to local inflammation (16.7% versus 43.2%). For successful implantation, the odds ratio was 0.26 (0.08–0.82; $p = 0.02$) in the presence of molecular genetic signs of local inflammation.

Conclusion. The local inflammatory response is a poor prognostic criterion for implantation in the IVF program. Investigation of the expression profile of the cytokine genes in the vaginal mucosa is a promising area of noninvasive diagnosis and may be used to individualize patient management tactics in the IVF program.

Key words: implantation, mRNA gene expression, in vitro fertilization, vaginal mucosa.

The study was partially subsidized by the Ministry of Education of Russia under Grant Agreement No. 14.607.21.0019 dated 5 June, 2014.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

For citations: Khachaturyan D.A., Smolnikova V.Yu., Burmenskaya O.V., Donnikov A.E., Nepsha O.S. Proinflammatory gene expression profile of innate immunity in the vaginal mucosa as a predictor of the outcome of an in vitro fertilization and embryo transfer program. Akushersivo i ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2015; (4): 50–55. (in Russian)

Неудачи имплантации в настоящее время остаются одним из лимитирующих факторов в эффективности программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Процесс имплантации зависит от наличия здорового эмбриона и рецептивного эндометрий, также важен продуктивный молекулярный «диалог» между этими составляющими. Эндометрий является восприимчивым для имплантации эмбриона достаточно короткий промежуток времени (1–3 дня) в середине лuteиновой фазы нормального овуляторного цикла, называемый окном имплантации, продолжительность которого определяется половыми стероидными гормонами, регулирующими экспрессию локально действующих факторов роста, транскрипционных факторов, молекул адгезии, цитокинов и хемокинов [1].

Основными продуцентами цитокинов являются иммунокомпетентные клетки, локализованные во всех органах генитального тракта женщины [2, 3]. Немалый вклад в синтез цитокинов вносят и клетки эпителия, выстилающего влагалище, шейку и собственно полость матки. Данный тип клеток выполняет не просто барьерную функцию, а представляет собой динамические иммунные клетки, которые могут играть основополагающую роль в определении иммунологического окружения генитального тракта [4].

Для успешной имплантации эмбриона и его развития на ранних сроках беременности необходимо наличие цитокинов, обладающих противовоспалительной/иммуносупрессорной активностью. Учитывая эффект плейотропного действия цитокинов, наличие воспалительных заболеваний в нижних отделах репродуктивной системы приводит к снижению вероятности имплантации эмбриона [2, 3].

Применяемый в рутинной практике метод микроскопии мазка с подсчетом числа лейкоцитов является достаточно субъективным и не может в полной мере отражать многогранность локального иммунного ответа.

Изучение профиля экспрессии мРНК ряда генов иммунной системы в соскобах эпителиальных клеток позволяет охарактеризовать состояние локального иммунитета слизистой влагалища в тот или иной момент времени [5], что может оказаться информа-

тивным для прогностической оценки эффективности программ ЭКО.

Материал и методы исследования

Нами было проведено проспективное клиническое исследование случай – контроль женщин репродуктивного возраста, проходивших лечение методом ЭКО и переноса эмбрионов в отделении вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России.

В исследование были включены 67 женщин с бесплодием. Критериями включения в исследование были: возраст женщин от 18 до 42 лет, трубно-перитонеальный фактор бесплодия, регулярный менструальный цикл, сохраненный овариальный резерв, отсутствие патологии эндометрия по данным ультразвукового исследования, фертильная или субфертильная сперма супругов, наличие информированного согласия на проведение исследования. Исследование одобрено этическим комитетом НЦАГиП (протокол № 19 от 2.03.2012). Критериями исключения являлись: бесплодие, обусловленное иммунологическим фактором (наличие антиспермальных антител), миома матки любых размеров, острые воспалительные заболевания органов малого таза, олигоастенотератозооспермия III и IV степени (по нормативам ВОЗ, 2010 г.), пороки развития внутренних половых органов, соматические и психические заболевания, являющиеся противопоказанием для вынашивания беременности и родов. Всем пациенткам проводили стандартное клинико-лабораторное обследование в соответствии с приказом Минздрава России №107н от 30 августа 2012 г. «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению».

В зависимости от эффективности программы ЭКО, которая нами оценивалась по частоте имплантации из расчета на перенос эмбриона, пациентки были разделены на 2 группы: I группу

составили женщины с «биохимической» беременностью ($n=30$); II группу – с отрицательным результатом ($n=37$).

Изучение профиля экспрессии генов проводили в день переноса эмбрионов в полость матки. В качестве биоматериала для исследований использовали соскобы слизистой оболочки заднебоковой стенки влагалища. Взятие материала для определения экспрессии мРНК генов иммунного ответа во избежание деградации РНК осуществляли в пробирки объемом 1,5 мл со специальной транспортной средой (лизирующий раствор набора «Проба НК» производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Оценку уровня экспрессии мРНК проводили с помощью количественной полимеразной цепной реакции с предварительной стадией обратной транскрипции в режиме реального времени коммерческими тест-системами («ДНК-Технология», Россия), согласно инструкции. Реакция амплификации проводилась с помощью детектирующего амплификата ДТ-96 («ДНК-Технология», Россия).

В ходе исследования была проанализирована экспрессия мРНК 13 генов: цитокинов (интерлейкин (IL)1 β , IL8, IL10, IL18, фактор некроза опухоли (TNF) α , трансформирующий фактор роста (TGF β 1), транскрипционных факторов (TBX21, GATA3, RORC2), толл-подобных рецепторов (TLR2, TLR4) и поверхностных маркеров клеток иммунной системы (CD45, CD68).

Нормировка уровня экспрессии генов выполнена с использованием метода сравнения индикаторных циклов (метод ΔCq) по трем референсным генам TBP, B2M, GUSB. В качестве меры центральной тенденции количественных признаков выбрана медиана (Me), а в качестве интервальной оценки – верхний (0,75) и нижний квартили (0,25). Результаты представлены в виде Me (0,25–0,75). Для оценки значимости межгрупповых различий применялся U-критерий Манна–Уитни для несвязанных совокупностей.

Всем пациенткам проводилась стимуляция функции яичников препаратами рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона с антагонистами гонадотропин-рилизинг гормона. Со дня пункции всем пациенткам проводили поддержку лuteиновой фазы дидрогестероном. Производили перенос 1–2 эмбрионов в полость матки. Имплантация оценивалась как положительная при уровне β -субъединицы человеческого хорионического гонадотропина более 20 МЕ/л (HCG STAT, Cobas).

Результаты исследования

Средний возраст обследованных женщин в I группе составил $33,4 \pm 3,4$ года, во II – $33,0 \pm 4,8$ года. Средняя продолжительность бесплодия не имела межгрупповых различий и составила $5,5 \pm 4,1$ года и $5,3 \pm 3,1$ года в I и II группах соответственно. Первичное бесплодие было выявлено у 47% женщин в I группе и у 43% во II, вторичное – у 53 и у 57% пациенток соответственно. Анализируя репродуктивный анамнез женщин

со вторичным бесплодием, выявили, что наиболее частыми исходами предыдущих беременностей были искусственные abortionы – 31,25 и 33,3%; частота самопроизвольных выкидышей составила 25 и 23,8%, доля внематочных беременностей – 56,25 и 52,3% в I и II группах соответственно.

В ходе исследования параметров фолликуло-, оогенеза и раннего эмбриогенеза было выявлено достоверное различие между группами по количеству полученных эмбрионов ($p=0,02$). В отношении остальных параметров значимых различий между группами пациенток выявлено не было (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика групп по параметрам фолликуло-, оогенеза и раннего эмбриогенеза

Параметры фолликуло-, оогенеза, раннего эмбриогенеза	I группа	II группа
Количество дней стимуляции	$10,1 \pm 0,4$	$10,0 \pm 0,3$
Количество преовуляторных фолликулов	$9,6 \pm 0,7$	$9,2 \pm 0,8$
Количество полученных ооцитов	$7,1 \pm 0,6$	$6,7 \pm 0,7$
Количество зрелых ооцитов	$5,5 \pm 0,5$	$4,7 \pm 0,4$
Количество полученных эмбрионов	$4,2 \pm 0,3$	$3,4 \pm 0,3$
Количество перенесенных эмбрионов	$2,0 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$

В группе пациенток, у которых наступила «биохимическая» беременность, было отмечено статистически значимое повышение уровня экспрессии мРНК следующих генов: CD68 – 31,1 (27,1–63,7) о.е. против 21,9 (14,4–38,5) о.е. ($p=0,034$), GATA3 – 16,4 (7–51,1) о.е. против 5,3 (2–18) о.е. ($p=0,004$), IL18 – 200,6 (71,1–688) о.е. против 59,5 (16,1–165,2) о.е. ($p=0,014$), RORC2 – 0,07 (0,04–0,31) о.е. против 0,03 (0,02–0,06) о.е. ($p=0,003$).

Статистически значимые различия между уровнями IL10, TLR4, TLR2, TNF α , TGF β 1, TBX21, CD45 в I и II группах в ходе исследования не были выявлены (табл. 2).

В предыдущих исследованиях [6] было показано, что уровень экспрессии генов цитокинов коррелирует с наличием локальной воспалительной реакции. Интегральная оценка уровня экспрессии мРНК четырех генов иммунного ответа (TLR4, GATA3, TNF α , IL18), позволила выявить образцы с признаками локальной воспалительной реакции [7]. Согласно предлагаемому способу оценки локальной воспалительной реакции на основе молекулярных маркеров индекс воспаления может быть рассчитан по формуле: $z=1,4 * \ln([TLR4]/[GATA3])+1,3 * \ln([TNF]/[IL18])+7,8$,

где [TLR4]/[GATA3] и [TNF]/[IL18] – индексы соотношения уровней экспрессии соответствующих генов.

Все образцы были проанализированы с использованием данного метода. На основании полученного значения вероятности локальной воспалительной реакции образцы были разделены на соответствующие норме и соответствующие локальному воспалению (табл. 3).

Таблица 2. Уровни экспрессии мРНК генов иммунного ответа в группах исследования

Ген	Результат программы ЭКО		Различия между группами, <i>p</i> *
	Безуспешная попытка ЭКО Ме (0,25–0,75)	«Биохимическая» беременность (имплантация)	
CD45	2 (0,6–3,7)	0,9 (0,4–2,4)	0,277
CD68	21,9 (14,4–38,5)	31,1 (27,1–63,7)	0,034
GATA3	5,3 (2–18)	16,4 (7–51,1)	0,004
IL10	0,014 (0,006–0,031)	0,046 (0,007–0,067)	0,354
IL18	59,5 (16,1–165,2)	200,6 (71,1–688)	0,014
IL1 β	170,7 (74,8–439,1)	132 (33,9–562,2)	0,510
IL8	159,5 (95,9–411,2)	102,2 (47,8–509,1)	0,242
RORC2	0,03 (0,02–0,06)	0,07 (0,04–0,31)	0,003
TBX21	0,01 (0–0,02)	0,03 (0,01–0,07)	0,082
TGF β 1	7,5 (3,3–14,8)	6,7 (3,5–22,0)	0,950
TLR2	0,15 (0,03–0,3)	0,21 (0,05–0,58)	0,480
TLR4	0,24 (0,07–0,66)	0,10 (0,03–0,38)	0,200
TNF α	1,3 (0,6–3,1)	1,7 (0,7–6,9)	0,281

* – критерий Вилкоксона – Манна–Уитни для несвязанных совокупностей.

Таблица 3. Исходы программ ЭКО в зависимости от профиля экспрессии мРНК генов иммунного ответа в клетках слизистой оболочки влагалища

Профиль экспрессии мРНК генов иммунного ответа	Отрицательный результат (<i>n</i> =37)	Имплантация (<i>n</i> =30)
Соответствует норме	21 (56,8%)	25 (83,3%)
Соответствует воспалению	16 (43,2%)	5 (16,7%)

Среди пациенток, у которых наступила имплантация, статистически значимо реже наблюдали экспрессионный профиль, соответствующий локальному воспалению (16,7 против 43,2%). Для успешной имплантации отношение шансов составило 0,26 (0,08–0,82, *p*=0,02) при наличии молекулярно-генетических признаков локального воспаления.

Обсуждение

Целью данного исследования было изучение экспрессионного профиля генов цитокинов и других маркеров в клетках слизистой влагалища с использованием молекулярно-генетических методов в день переноса эмбриона в полость матки для оценки прогностической значимости анализируемых показателей в результирующей программе ЭКО. Было показано, что наступление «биохимической» беременности происходит на фоне повышения экспрессии мРНК генов CD68, GATA3, IL18, RORC2 и понижения – IL1 β и IL8 в клетках слизистой влагалища.

Имплантация эмбриона зависит от многих факторов, одним из которых является «правильное» иммунологическое окружение. На сегодняшний день существуют неоспоримые данные о том, что процесс имплантации эмбриона находится под строгим контролем локально секретирующихся цитокинов [6, 8]. Во время имплантации и на протяжении всей беременности необходимо поддержание состояния иммунологической толерантности со стороны организма матери по отношению к генетически чужеродному эмбриону/плоду.

Существуют данные, связывающие неблагоприятный исход ЭКО с повышенным уровнем таких провоспалительных цитокинов, как TNF- α , IL-1 β и IL-8 в вагинальном содержимом [9]. В ходе нашего исследования статистически значимые различия по уровню экспрессии генов указанных цитокинов между группами не были получены. Тем не менее, в группе с неэффективным лечением средний уровень экспрессии мРНК гена IL8 составлял 159,5 (95,9–411,2) против 102,2 (47,8–509,1) о.е. у женщин с «биохимической» беременностью. Уровень экспрессии мРНК гена IL1 β составлял 170,7 (74,8–439,1) и 132,0 (33,9–562,2) в I и II группах соответственно, что согласуется с приведенными данными. Исходя из теории иммунологической толерантности, можно предположить, что неудачи ЭКО связаны с неблагоприятным иммунологическим окружением, обусловленным воспалительным фоном, проявляющимся повышением экспрессии мРНК генов провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-8. Хотя стоит отметить, что для успешного процесса имплантации необходим определенный уровень данных цитокинов. В то же время чрезмерное повышение или понижение уровня экспрессии ведет к нарушению равновесия в системе, что приводит к неблагоприятным последствиям.

T.G. Wegmann с соавт. полагал, что успешная беременность является результатом преобладания Т-лимфоцитов 2-го типа (Th2) по отношению к Т-лимфоцитам 1 типа (Th1) [10]. Th1-ответ сопровождается повышением цитокинов IL-2, TNF- α и интерферона (IFN)- γ , обладающими провоспалительными свойствами, а Th2 – IL-4, IL-5 и IL-10.

11. Ng S.C., Gilman-Sachs A., Thaker P., Beaman K.D., Beer A.E., Kwak-Kim J. Expression of intracellular Th1 and Th2 cytokines in women with recurrent spontaneous abortion, implantation failures after IVF/ET or normal pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2002; 48(2): 77-86.
12. Ledee N., Dubanchet S., Lombroso R., Ville Y., Chaouat G. Downregulation of human endometrial IL-18 by exogenous ovarian steroids. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2006; 56(2): 119-23.
13. Laird S.M., Tuckerman E.M., Li T.C. Cytokine expression in the endometrium of women with implantation failure and recurrent miscarriage. *Reprod. Biomed. Online.* 2006; 13: 13-23.
14. Yagi R., Zhu J., Paul W.E. An updated view on transcription factor GATA3-mediated regulation of Th1 and Th2 cell differentiation. *Int. Immunol.* 2011; 23(7): 415-20.
15. Abrahams V.M., Kim Y.M., Straszewski S.L., Romero R., Mor G. Macrophages and apoptotic cell clearance during pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2004; 51(4): 275-82.
16. Fest S., Aldo P.B., Abrahams V.M., Visintin I., Alvero A., Chen R. et al. Trophoblast-macrophage interactions: a regulatory network for the protection of pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2007; 57(1): 55-66.
17. Ruiz-Alonso M., Blesa D., Díaz-Gimeno P., Gómez E., Fernández-Sánchez M., Carranza F. et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil. Steril.* 2013; 100(3): 818-24. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.05.004.
18. van Mourik M.S., Macklon N.S., Heijnen C.J. Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in establishing an implantation environment. *J. Leukoc. Biol.* 2009; 85(1): 4-19.
19. Robertson S.A., Moldenhauer L.M. Immunological determinants of implantation success. *Int. J. Dev. Biol.* 2014; 58(2-4): 205-17.
20. Fichorova R.N. Guiding the vaginal microbicide trials with biomarkers of inflammation. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2004; 37(Suppl. 3): 184-93.

Поступила 17.11.2014

Принята в печать 18.12.2014

Received 17.11.2014

Accepted 18.12.2014

Сведения об авторах:

Хачатуриян Джульетта Артавазовна, аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: dzhulieta@inbox.ru
Смольникова Вероника Юрьевна, д.м.н., в.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: veronika.smolnikova@mail.ru
Донников Андрей Евгеньевич, к.м.н., с.н.с. лаборатории молекулярно-генетических методов ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: donnikov@dna-technology.ru
Непша Оксана Сергеевна, к.б.н., м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических методов ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: nepshonok@yandex.ru
Бурменская Ольга Владимировна, к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических методов ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: bournmenska@mail.ru

About the authors:

Khachaturian Juliet Artavazovna, postgraduate, department of assistive technology in the treatment of infertility Academician V.I. Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: dzhulieta@inbox.ru
Smolnikova Veronika Uruevna, MD, PhD, Academician V.I. Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: veronika.smolnikova@mail.ru
Donnikov Andrey Eugenyevich, Ph.D., senior researcher, Laboratory of molecular-genetic methods, Academician V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of the Russia. 117497, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: donnikov@dna-technology.ru
Nepsha O.S., PhD, junior researcher of laboratory of molecular genetic methods, Academician V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia. 117497, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: nepshonok@yandex.ru
Burmenskaya O.V., PhD, researcher of laboratory of molecular genetic methods, Academician V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: o_bournmenskaya@oparina4.ru