



© А. С. Глотов^{1,2},
Е. С. Вашукова¹, М. Д. Канаева²,
М. О. Двоеглазова²,
М. М. Данилова², В. С. Пакин¹,
Е. Ю. Марочкина¹,
Д. Р. Бикмуллина¹, М. А. Глебова²,
И. А. Махрова³, Г. И. Образцова³,
О. С. Глотов¹, М. С. Зайнулина¹,
Т. Э. Иващенко¹, В. С. Баранов¹

¹НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

³ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия Мин здравоохранения России

✿ Методом ПЦР/ПДРФ анализа у беременных женщин с гестозом, детей с артериальной гипертензией, с метаболическим синдромом и ожирением, а также у беременных без гестоза, у школьников и доноров (группы контроля), исследован полиморфизм генов метаболизма липидов: аполипопротеина Е — *APOE* (*E2/E3/E4*), липопротеинлипазы — *LPL* (*1595C>G*) и эндотелиальной NO-синтазы — *NOS3* (*-786T>C*). Зарегистрировано статистически значимое увеличение частоты генотипа T/C по гену *NOS3* у беременных женщин с гестозом и с физиологической беременностью по сравнению с группой доноров (56, 59 и 37 % соответственно, $F < 0,03$)

✿ **Ключевые слова:** дети; беременные; артериальная гипертензия; ожирение; метаболический синдром; гестоз; полиморфизм генов *APOE*, *LPL*, *NOS3*.

Поступила в редакцию 12.07.2011
Принята к публикации 11.11.2011

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *APOE*, *LPL* И *NOS3* С РИСКОМ СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ У ДЕТЕЙ И БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

ВВЕДЕНИЕ

Охрана здоровья матери и ребенка в России является одной из важнейших задач здравоохранения. Она входит в число главных приоритетов Программы модернизации здравоохранения РФ на 2011–2012 годы, направленной на совершенствование оказания медицинской помощи, используя современные высокотехнологические методы и подходы. В этой связи особенное значение приобретает проблема ранней досимптоматической диагностики широко распространенных мультифакторных заболеваний (МФЗ), решение которой позволяет организовать их эффективную профилактику.

Удобными маркерами риска МФЗ являются аллельные варианты генов, ассоциированных с МФЗ. Для многих из них, включая артериальную гипертензию, ишемическую болезнь сердца, метаболический синдром и ряда других, показана четкая ассоциация определенных полиморфных вариантов генов с соответствующими болезнями.

Внимание многих исследователей и клиницистов в настоящее время сосредоточено на изучении наследственных факторов, лежащих в основе таких широко распространенных заболеваний, как гестоз у беременных женщин, артериальная гипертензия и ожирение — у детей (Баранов, 2009).

Гестоз (преэклампсия) является основной причиной материнской и перинатальной заболеваемости и смертности (Cook et al., 2001; Dekker et al., 1995). Основу патогенеза заболевания составляет генерализованное повреждение эндотелия сосудов, сопутствующее нарушениям процессов имплантации и плацентации (Bertina et al., 1994). Однако, несмотря на многочисленные исследования, патогенез данного заболевания остается невыясненным. Некоторые исследователи связывают риск развития заболевания с «дефектами» в генах системы свертывания крови, иммунной и эндокринной систем, ренин-ангиотензиновой системы, системы детоксикации и липидного обмена (Баранов, 2009; Kim et al., 2001; Chikosi et al., 2000), другие придерживаются мнения о важной роли генов оксидативного стресса, функции эндотелия и ангиогенеза в патогенезе гестоза и т. д. (Баранов, Айламазян, 2009; Chappell et al., 2006).

Артериальная гипертензия (АГ) является одной из серьезных медико-социальных проблем. Повышенный уровень артериального давления (АД) определяется у 30 % взрослого населения развитых стран мира и у 12–15 % — наблюдается стойкая АГ, которая зачастую является причиной таких жизненно опасных заболеваний, как инфаркт миокарда и инсульт. Около 90 % всех случаев смерти от сердечно-сосудистых заболеваний приходится на долю АГ и ее осложнений (www.minzdravsoc.ru). В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что истоки АГ лежат в детском и подростковом возрасте, причем наследственная предрасположенность играет важную роль в ее происхождении (Бугун и др., 2003). В настоящее время активно изучаются гены, относящиеся

к основным системам регуляции артериального давления (ренин-ангиотензиновая, кинин-брадикининовая, эндотелиальная), а также гены метаболизма липидов (Yang et al., 2011).

Артериальная гипертензия (АГ) и ожирение являются облигатными компонентами такого распространенного экогенетического заболевания, как метаболический синдром (МС). Ранее считалось, что МС встречается только у людей среднего и пожилого возраста. Однако проведенные под эгидой Американской ассоциации диабетологов исследования свидетельствуют о том, что это заболевание чаще формируется в детском и подростковом возрасте. Так, по данным из Университета Дж. Вашингтона (Сиэтл), в период с 1994 по 2004 гг. частота МС среди подростков возросла с 4,2 до 6,4 % (Болотова и др., 2007; Чазова и др., 2010). До настоящего времени нет единого мнения о первопрочине возникновения МС. Не вызывает сомнений, что МС и ожирение относятся к группе МФЗ (МФЗ), в развитии которых важную роль отводят наследственной предрасположенности (Ройтберг, 2007; Потемкин и др., 2004). Особое внимание исследователи уделяют полиморфизму генов, которые участвуют в «накоплении» энергии. Исследования последних лет показали, что полиморфизм генов, контролирующих метаболизм липидов и артериальное давление, играет в этом процессе ведущую роль (Баранов, 2009).

Для всех вышепересмотренных заболеваний (АГ, Г, МС) характерно изменение уровня триглицеридов и высокое артериальное давление (He et al., 2007), что свидетельствует о синтропности (сходстве этиопатогенеза) этих МФЗ, обусловленной общностью метаболических путей и, соответственно, контролирующих их генных сетей (Пузырев, 2008).

На сегодняшний день существует более сотни генетических маркеров, связанных с изменениями уровня артериального давления и липидов в крови (Баранов, 2009). Однако не для всех из них показана связь с риском развития заболеваний. Наиболее исследованными и изученными маркерами являются ген аполипопротеина *E* (*APOE*), ген липопротеинлипазы (*LPL*), ген эндотелиальной NO-синтазы (*NOS3*).

АпоЕ является одним из ключевых белков метаболизма липопротеинов и холестерина, участвует в образовании и секреции липопротеинов, обеспечивает связывание липопротеинов с рецепторами липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), инициирует их захват и удаление из крови (Mahley, 1988; Beisiegel et al., 1989). ЛПНП переносят в организме холестерин, и их повышенный уровень может вызывать жировые отложения в стенках сосудов (как правило, в артериях), что, в свою очередь, влияет на артериальное давление. Полиморфизм гена *APOE* был впервые описан Утерманном и др. (Utermann et al., 1980) на основании результатов изоэлектрического фокусирования делипидированных ЛПОНП (липопротеины очень низкой плотности). По общепринятой классификации

выделяют три аллели гена *APOE*: *E2*, *E3* и *E4*, наличие которых обусловлено нуклеотидными (аминокислотными) заменами в двух положениях 388T>C (*Cys112Arg*) и 526C>T (*Arg158Cys*). Показано, что аллель *E4* сопряжена с повышенным уровнем холестерина и повышенным риском ишемической болезни сердца (Eichner et al., 2002). У носителей генотипа *E2/E3* в два раза реже наблюдается повышение диастолического АД > 90 мм рт. ст., чем у носителей других генотипов. Носители аллели *E2* и генотипа *E2/E3* в отличие от носителей аллели *E4* реже имеют повышенный индекс атерогенности. Показано, что аллель *E4* является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у жителей Европы и афро-американцев (Mahley, Rall, 2000).

Липопротеинлипаза (ЛПЛ) — ключевой фермент метаболизма липидов, который является основным компонентом триглицерид-насыщенных хиломикронов и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Известны три мутации гена *LPL*. Самая распространенная мутация встречается у 16–22 % населения. Это точечная мутация 1595C>G (*Ser447Stop*), которая приводит к образованию стоп-кодона на месте серина-447, и, таким образом, синтезируется сокращенная копия фермента. Показано, что мутация 1595C>G является маркером пониженного риска инфаркта (Shimo-Nakanishi et al., 2001). Также обнаружено, что аллель *G* связана со снижением уровня триглицеридов (van Bockxmeer et al., 2001), а также со снижением АД у девочек-близнецов (Huang et al., 2005). Генотип *C/C* связан с повышенным риском развития АГ (Salah et al., 2009). Однако в ряде работ обнаружена отрицательная связь между вариантом 1595C и ишемической болезнью сердца (Hokanson et al., 1997).

NO-эндотелиальная синтаза является важным компонентом регуляции тонуса кровеносных (Radomski et al., 1993; Searle et al., 1992) и лимфатических сосудов (Leak et al., 1995), а также тромбообразования. Известно несколько мутаций в гене *NOS3*, одна из них — однонуклеотидная замена в промоторной части гена (–786T>C). Эта замена приводит к значительному угнетению промоторной активности гена и, соответственно, к снижению синтеза эндотелиального NO, что может влиять на состояние гладкомышечных клеток сосудистой стенки. Снижение синтеза эндотелиального NO при замене Т на С в положении –786 является фактором риска спазма коронарных артерий (Nakayama et al., 1999; Rossi et al., 2003).

Таким образом, белковые продукты генов *APOE*, *LPL* и *NOS3* играют ключевую роль как в обмене липидов (ЛПНП и холестерина), так и в регуляции тонуса сосудов, нарушения которых могут являться серьезными факторами риска развития АГ, Г и МС.

Целью настоящей работы явилось изучение особенностей полиморфизма (частот аллелей) генов *APOE* (*E2/E3/E4*), *LPL* (1595C>G) и *NOS3* (–786T>C) у бе-

Таблица 1

Характеристика исследованных групп

Общие данные	Беременные с гестозом	Беременные (контроль)	Доноры	Дети с артериальной гипертензией	Дети с ожирением и метаболическим синдромом	Школьники
Всего, N	97	101	228	170	153	139
Мужчины (мальчики), N	—	—	154	124	70	52
Женщины (девочки), N	97	101	74	46	83	87
Средний возраст	29_{20}^{43}	$26,0_{19,4}^{37,3}$	21_{18}^{53}	16_{11}^{17}	$14,0_{8,6}^{17,0}$	14_{6}^{17}
САД, мм рт. ст.	150_{129}^{196}	110_{100}^{120}	—	130_{112}^{149}	130_{109}^{147}	110_{90}^{132}
ДАД, мм рт. ст.	$97,5_{80}^{120}$	70_{60}^{80}	—	72_{62}^{89}	85_{65}^{100}	65_{47}^{85}
Индекс массы тела, кг/м ²	—	—	$23,0_{19,8}^{27,4}$	$23,1_{17,3}^{36,5}$	$31,2_{24,2}^{40,5}$	$19,5_{13,4}^{29,1}$
Триглицериды	$2,12_{1,26}^{10,16}$	$3,31_{1,69}^{7,85}$	—	—	$1,52_{0,70}^{2,92}$	$0,72_{0,24}^{1,55}$

Примечание: данные возраста, САД (систолическое АД), ДАД (диастолическое АД), индекса массы тела, триглицеридов указаны с 95 % доверительным интервалом

ременных женщин с Г, детей с АГ и детей с МС Северо-Западного региона России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИЙ ОБРАЗЦОВ ДНК И ФОРМИРОВАНИЕ ГРУПП ОБСЛЕДОВАНИЯ

Нами созданы коллекции образцов ДНК беременных женщин с патологией беременности (гестоз) (НИ-ИАГ им. Д. О. Отта СЗО РАМН) и без таковой (роддом №18 г. Санкт-Петербурга) общей численностью 240 человек, образцы ДНК доноров — 228 человек (ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА России и НИИИАГ им. Д. О. Отта СЗО РАМН), детей-школьников популяционной группы (ГУЗГП № 109, ДПО № 64 Фрунзенского района г. Санкт-Петербурга), детей с АГ (Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия МЗ и СР РФ) и детей с ожирением и метаболическим синдромом (ГУЗГП № 109, ДПО № 64 Фрунзенского района г. Санкт-Петербурга) общей численностью 479 человек.

В дальнейшей работе были исключены образцы ДНК неславянского этнического происхождения, а также образцы ДНК, не соответствующие нижеприведенным критериям.

Группу беременных женщин с гестозом, из которой были исключены пациентки с тромбозами в анамнезе и приобретенными формами тромбофилии (антифосфолипидный синдром) составили 97 женщин с гестозом средней, тяжелой степени и преэклампсией (согласно классификации Савельевой и соавт., 2005). Диагноз гестоз устанавливался при наличии не менее двух клинических проявлений в следующих сочетаниях: повышение арте-

риального давления (АД) и отеки, отеки и протеинурия, сопровождающаяся повышением АД, а также классической триады симптомов — отеки, гипертензия, протеинурия.

В контрольную группу женщин с физиологическим течением беременности был включен 101 человек, у которых было установлено отсутствие в анамнезе тромбозов, хронических и инфекционных заболеваний, акушерских патологий.

Группу доноров составили 228 человек (154 мужчины и 74 женщины) славянской национальности, не имеющих выраженных патологий в анамнезе.

Группу детей с артериальной гипертензией составили 170 человек. Диагноз ставился в тех случаях, когда при казуальных измерениях артериального давления у ребенка неоднократно (не менее 3 раз при отдельных визитах к врачу) отмечался повышенный уровень АД (Образцова и др., 2005).

Контрольная группа детей-школьников была представлена 139 субъектами с нормальной или недостаточной массой тела, 1-й или 2-й группой здоровья.

Группу детей с ожирением и метаболическим синдромом составили 153 человека. Из обследуемой группы были исключены дети с вторичным ожирением, гипоталамическим синдромом пубертатно-юношеского периода, врожденными пороками развития органов и систем.

Основные характеристики групп представлены в таблице 1.

ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК

Образцы ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови фенольным методом, как описано ранее (Маниатис и др., 1984), или в соответствии с методикой Миллер с соавт. (Miller et al., 1988) с некоторыми модификациями.

Таблица 2

Условия анализа полиморфизма генов *APOE*, *LPL* и *NOS3* методом ПЦР–ПДРФ

Гены	<i>APOE</i>	<i>LPL</i>	<i>NOS3</i>
Полиморфизм	<i>E2/E3/E4</i>	<i>1595C>G</i>	<i>-786T>C</i>
Структура праймеров	F:5'TCCAAGGAGCTGCAGG-CGGCGCA 3' R:5'GCCCCGGCCTGGTAC-ACTGCCA 3'	F:5'CCATGACAAGTCTCTG-AATAAGGAG 3' R:5'GATCACATGAGTCAG-GGCAAGC 3'	F:5'CTGTGGACCAGATGCCCAG-3' R:5'GTCATTCAAGTGACGCACGCTC 3'
Условия ПЦР	90°C — 3 мин; 38 циклов: 98°C — 10 мин; 98°C — 10 мин; 70°C — 50 мин; закл. синтез 70°C — 3 мин	95°C — 5 мин; 37 циклов: 95°C — 30 с; 60°C — 30 с; 72°C — 1 мин; закл. синтез 72°C — 5 мин	95°C — 5 мин; 37 циклов: 95°C — 30 с; 60°C — 30 с; 72°C — 1 мин; закл. синтез 72°C — 5 мин
Эндонуклеаза рестрикции	HspA I	Hinf I	Msp I
Размеры фрагментов	<i>E3/E3</i> - 91, 38, 29 и 23 п. о. <i>E2/E3</i> - 91, 85, 38, 29 и 23 п. о. <i>E4/E4</i> - 91, 76, 38, 29 и 23 п. о.	<i>C/C</i> - 167 п. о. <i>C/G</i> - 167, 143 и 24 п. о. <i>G/G</i> - 143 и 24 п. о.	<i>T/T</i> - 230 и 25 п. о. <i>T/C</i> - 230, 184, 46 и 25 п. о. <i>C/C</i> - 184, 46 и 25 п. о.

АНАЛИЗ ОБРАЗЦОВ ДНК

Для исследования полиморфизма генов *APOE* (*E2/E3/E4*), *LPL* (*1595C>G*) и *NOS3* (*-786T>C*) был использован метод ПЦР–ПДРФ:

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

Реакционная смесь (25 мкл) для ПЦР была следующего состава: вода, 1,5 мМ $MgCl_2$, 0,2 мМ каждого из dNTP («Силекс», Россия), 2,5 ед. акт. Taq-полимеразы («Силекс», Россия), смесь оригинальных праймеров (F & R): *NOS3*, *LPL* и *APOE* по 0,2 пМ каждого из прямых и обратных праймеров (в отдельной пробирке для каждого из генов), ДНК-матрица (1 мкл) и буфер для ПЦР:

6,7 мМ Трис-НСl pH 8,6
16,6 мМ $(NH_4)_2SO_4$
0,001 % Тритон X-100.

Реакцию проводили при следующих режимах, указанных в таблице 2.

ГИДРОЛИЗ ЭНДОНУКЛЕАЗАМИ РЕСТРИКЦИИ

К продуктам ПЦР гена *APOE* (5 мкл) добавляли следующий состав реактивов: вода, эндонуклеаза рестрикции HspA I («СибЭнзим», Россия), фирменный буфер Y («СибЭнзим», Россия). К продуктам ПЦР гена *LPL* (5 мкл) добавляли следующий состав реактивов: вода, эндонуклеаза рестрикции Hinf I («СибЭнзим», Россия), фирменный буфер O («СибЭнзим», Россия). К продуктам ПЦР гена *NOS3* (5 мкл) добавляли следующий состав реактивов: вода, эндонуклеаза рестрикции Msp I («СибЭнзим», Россия), фирменный буфер B («СибЭн-

зим», Россия). Ферментативный гидролиз ДНК проводили согласно рекомендациям фирмы-изготовителя (ООО «СибЭнзим», г. Новосибирск).

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ В ПОЛИАКРИЛАМИДНОМ ГЕЛЕ (ПААГ)

Полноту гидролиза (размеры ДНК-фрагментов указаны в таблице 2) оценивали по результатам электрофореза в 6 % полиакриламидном геле с последующей окраской этидиумбромидом и визуализацией в проходящем УФ-свете.

МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ

Для сравнения исследуемых групп по частотам генотипов и аллелей отдельных генов был использован стандартный метод χ^2 , критерий Фишера (F) (статистическая программа «GraphPad InStat») и коэффициент соотношения шансов (OR), рассчитанный по формуле:

$$OR = \frac{a/b}{c/d},$$

где $a = n_1$, $b = N_1 - n_1$, $c = n_2$, $d = N_2 - n_2$; N_1 и N_2 — численность выборки, n_1 и n_2 — числа особей с изучаемым признаком в этих двух выборках. В приведенных в данной работе расчетах OR указан с 95%-м доверительным интервалом. Критический уровень значимости для отвержения нулевой гипотезы принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частоты генотипов и аллелей генов *APOE*, *NOS3* и *LPL* в изученных группах представлены в табл. 3 и

Таблица 3

Частоты генотипов и аллелей генов *NOS3* и *LPL* у беременных женщин с Г, с физиологической беременностью, у доноров, детей с артериальной гипертензией, детей с метаболическим синдромом и школьников

Ген/группы	Частоты аллелей, %		Частоты генотипов, %		
	<i>T</i>	<i>C</i>	<i>T/T</i>	<i>T/C</i>	<i>C/C</i>
<i>NOS3</i>					
Беременные, гестоз (n = 91)	56,6	43,4	28,6	56,0*	15,4
Беременные, контроль (n = 101)	61,4	38,6	31,7	59,4*	8,9
Доноры (n = 206)	62,6	37,4	39,8	45,6	14,6
Доноры (женщины) (n=57)	65,8	34,2	47,4	36,8*	15,8
Дети с АГ (n = 168)	65,2	34,8	39,9	50,6	9,5
Дети с МС (n = 102)	69,1	30,6	49,0	40,2	10,8
Школьники (n = 122)	66,4	33,6	44,3	44,3	11,4
<i>LPL</i>	<i>C</i>	<i>G</i>	<i>C/C</i>	<i>C/G</i>	<i>G/G</i>
Беременные, гестоз (n = 88)	93,2	9,1	87,5	11,4	1,1
Беременные, контроль (n = 101)	90,6	9,4	82,2	16,8	1,0
Доноры (n = 207)	92,8	7,2	86,5	12,6	1,0
Доноры (женщины) (n = 58)	95,7	4,3	91,4	8,6	0,0
Дети с АГ (n = 170)	91,1	8,9	84,3	13,6	2,1
Дети с МС (n = 142)	94,0	6,0	88,0	12,0	0,0
Школьники (n = 139)	91,6	8,4	84,6	14,1	1,3

Примечание: * — статистически значимые отличия в частотах генотипов между группами беременных женщин с гестозом и с физиологической беременностью по сравнению с группой доноров ($F < 0,03$).

Таблица 4

Частоты генотипов и аллелей гена *APOE* в группах беременных женщин с Г и с физиологической беременностью, у доноров, детей с АГ, детей с МС и у школьников

Ген	Частоты аллелей, %			Частоты генотипов, %					
	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>	<i>E2/E2</i>	<i>E2/E3</i>	<i>E2/E4</i>	<i>E3/E3</i>	<i>E3/E4</i>	<i>E4/E4</i>
<i>APOE</i>									
Беременные, гестоз (n = 89)	5,1	86,0	8,9	0,0	9,0	1,1	75,3	12,4	2,2
Беременные, контроль (n = 101)	5,0	84,1	10,9	0,0	9,9	0,0	69,3	19,8	1,0
Доноры (n = 227)	9,4	77,9	12,7	1,3	13,7	1,3	62,6	19,8	1,3
Доноры (женщины) (n = 74)	5,4	82,4	12,2	0,0	10,8	0,0	64,9	24,3	0,0
Дети с АГ (n = 148)	11,4	75,0	13,5	0,0	12,8	2,0	70,3	14,2	0,7
Дети с МС (n = 153)	6,8	85,6	7,5	0,7	12,4	0,0	73,9	11,1	2,0
Школьники (n = 139)	7,9	80,6	11,5	0,7	12,9	1,4	66,2	15,8	2,9

табл. 4. Распределение соответствующих генотипов по всем генам в исследуемых группах соответствовало распределению Харди–Вайнберга ($p > 0,05$; $df = 2$ — для генов *NOS3* и *LPL* и $p > 0,05$; $df = 5$ — для гена *APOE*, соответственно).

Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей по гену *APOE* не выявил статистически значимых различий между группой женщин с патологией беременности (гестоз) и женщинами с физиологической беременностью ($p = 0,8$; $df = 2$ — для аллелей и $p = 0,5$; $df = 5$ —

для генотипов соответственно). Также не было статистически значимых различий по частотам аллелей и генотипов между группами доноров (женщины) и беременными с гестозом или беременными контрольной группы ($p > 0,05$; $df = 2$ — для аллелей и $p > 0,05$; $df = 5$ — для генотипов, соответственно). При анализе частот аллелей и генотипов по гену *APOE* во всех трех группах детей не было выявлено гендерных отличий ($p > 0,05$; $df = 2$ — для аллелей и $p > 0,05$; $df = 5$ — для генотипов соответственно), поэтому в дальнейшем сравнение проводилось

между группами без подразделения по полу. Различий в частотах аллелей и генотипов по данному гену между группой школьников и детей с АГ или группой детей с ожирением и МС по аллелям ($p > 0,05$; $df = 2$) и генотипам ($p > 0,05$; $df = 5$) найдено не было.

При анализе частот аллелей и генотипов по гену LPL между тремя группами детей также не было выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$; $df = 1$ и $p > 0,05$; $df = 2$, соответственно). Частоты аллелей и генотипов внутри групп между мальчиками и девочками не отличались ($p > 0,05$; $df = 1$ и $p > 0,05$; $df = 2$, соответственно). Статистически значимых различий по частотам аллелей и генотипов между беременными с гестозом и беременными контрольной группы, а также между этими группами в отдельности и группой доноров (женщины) ($p > 0,05$; $df = 1$ и $p > 0,05$; $df = 2$, соответственно) не наблюдали.

При анализе частот аллелей и генотипов по гену NOS3 между школьниками и детьми с гипертонией не было выявлено статистически значимых различий ($p = 0,6$, $\chi^2 = 1,18$). Частоты аллелей и генотипов внутри групп между мальчиками и девочками в этих группах не отличались ($p > 0,05$; $df = 1$ и $p > 0,05$; $df = 2$, соответственно). Однако в связи с тем, что по частотам генотипов данного гена в группе детей с МС были выявлены гендерные отличия ($p = 0,02$, $\chi^2 = 7,97$), мы сравнили частоты генотипов гена NOS3 у мальчиков и девочек данной группы с таковыми у мальчиков и девочек группы контроля. Различий выявлено не было ($p > 0,05$; $df = 2$).

Сравнительный анализ частот генотипов по гену NOS3 у беременных с гестозом и женщин с физиологической беременностью выявил статистически значимые различия по сравнению с группой доноров ($p < 0,05$, $\chi^2 > 6,11$), тогда как между беременными с патологией и без нее отличий не было ($p = 0,4$, $\chi^2 = 1,92$). Также отличия были обнаружены и при сравнении всех трех групп одновременно ($p < 0,05$, $\chi^2 = 9,73$; $df = 4$). Частоты гетерозигот Т/С по гену NOS3 составили 36,8, 59,4, 56,0 % в группах доноров, беременных без патологии и беременных с гестозом соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Имеется много данных, свидетельствующих о том, что благополучное течение беременности, здоровье детей напрямую зависит от наследственных факторов (Баранов, 2009). К настоящему времени выявлен целый ряд генов, ассоциированных с риском развития многих МФЗ (Баранов, 2009). Однако, несмотря на это, в отечественной и зарубежной литературе практически полностью отсутствуют исследования генетических маркеров риска МФЗ у детей, немногочисленны и весьма противоречивы данные по наследственной предрасположенности к частым осложнениям беременности (в

том числе, к гестозу) (Баранов, 2009; Баранов, Айла-мазян, 2009). В связи с тем, что продукты генов APOE, LPL и NOS3 играют важную роль в обмене липидов и в регуляции тонуса сосудов, а потому являются вероятными факторами риска АГ, Г, ожирения и МС (Ройтберг и др., 2007; Глотов и др., 2007; Баранов, 2009; Баранов, 2009; Вашукова и др., 2010) нами была исследована возможная ассоциация полиморфизма данных генов с этими патологиями.

Согласно полученным данным частоты аллелей и генотипов по генам APOE и LPL, продукты которых играют ведущую роль в метаболизме липидов у детей с АГ и у женщин с Г не отличались от соответствующих показателей контрольных групп. Положительная ассоциация соответствующих аллелей и генотипов этих генов ранее была установлена только для лиц с ИБС среднего и пожилого возраста и пациентов с болезнью Альцгеймера (Tang et al., 1996; Eichner et al., 2002). Наши исследования проводились на образцах ДНК детей и беременных с Г, у которых атеросклеротические изменения сосудов, связанные с нарушениями липидного обмена, представляются маловероятными.

Несмотря на то, что в группе детей с ожирением и метаболическим синдромом были выявлены межполовые отличия по частотам аллелей и генотипов по гену NOS3, отличий между группами детей с ожирением и МС и школьниками отдельно по полу выявлено не было. По всей видимости, данный полиморфизм не является фактором риска развития гипертензии, ожирения и метаболического синдрома у детей.

Сравнительный анализ частот генотипов по гену NOS3 у беременных с гестозом и у женщин с физиологической беременностью выявил статистически значимые различия по сравнению с популяционной группой. В то же время между группами беременных с патологией и без нее отличий не было. Полученные результаты не противоречат ранее полученным данным (Малышева и др., 2003) о наличии ассоциации между вариантами гена NOS3 с развитием Г, так как они касались анализа других полиморфных сайтов данного гена (894 G>T, 4a/4b). Вместе с тем достоверное преобладание гетерозиготного генотипа Т/С у беременных в сравнении с популяционной выборкой женщин позволяет высказать ряд предположений.

Известно, что эндотелиальная NO-синтаза (NOS3) участвует в метаболизме оксида азота (NO). Последнему отводится ключевая роль во многих биологических процессах, таких как вазодилатация, нейротрансмиссия, агрегация тромбоцитов, реакция иммунной системы, регуляция тонуса гладких мышц и др. (Lowenstein et al., 1994; Nakaki, 1994). Оксид азота обеспечивает нормальные функции эндометрия, обеспечивая процессы имплантации, в частности, определяет восприимчивость эндометрия к плодному яйцу (Duran-Reyes et al., 1999; Chwalisz, Garfield, 2000). Не исключено,

что выявленные различия между беременными и группой доноров могут быть связаны с тем, что именно у гетерозигот по гену *NOS3* ($-786T>C$) имплантация яйцеклетки происходит оптимально. Показано, что НО-доноры могут быть полезны для повышения рождаемости, в то время как НО-ингибиторы перспективны для контрацепции (Maul et al., 2003). Местная терапия оксидом азота больных эндокринной формой бесплодия приводит к повышению секреции фолликулостимулирующего гормона и способствует восстановлению двухфазного цикла и овуляции (Грищенко и др., 2010). Можно предполагать наличие оптимального уровня оксида азота в тканях матки, который способствует имплантации и наступлению беременности. Не исключено, что у гетерозигот по варианту гена *NOS3* ($-786T>C$) уровень оксида азота в эндометрии и в мышечных клетках сосудов матки чаще оказывается оптимальным для наступления беременности. И как было показано ранее, у женщин с различными генотипами по гену *NOS3* выявлены существенные различия в частоте повторных выкидышей (Tempfer et al., 2001, Беспалова, 2007). Однако необходимы дальнейшие специальные исследования для проверки данного предположения.

Таким образом, полученные результаты и анализ данных литературы свидетельствуют в целом об отсутствии корреляции полиморфизма генов *APOE*, *LPL* и *NOS3* с риском развития сосудистых нарушений у детей и беременных женщин. А выявленная статистически значимая ассоциация между полиморфизмом гена *NOS3* и развитием беременности свидетельствует о важной роли оксида азота в процессах имплантации и плацентации, однако требует дополнительной проверки.

Работа выполнена при поддержке ГК № П2387.

Литература

1. Баранов В. С., 2009а. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: «Изд-во Н-Л», ООО. 528 с.
2. Баранов В. С., Айламазян Э. К., 2009б. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья: методические рекомендации. СПб.: «Изд-во Н-Л», ООО. 66 с.
3. Беспалова О. Н., 2007. Генетика невынашивания беременности // Журнал акушерства и женских болезней. Т. LVI. №. 1. С. 81–95.
4. Болотова Н. В., Лазебникова С. В., Аверьянов А. П., 2007. Особенности формирования метаболического синдрома у детей и подростков // Педиатрия. Т. 86. № 3. С. 35–39.
5. Бугун О. В., Рычкова Л. В., Долгих В. В., 2003. Двудцатичетырехчасовое мониторирование артериального давления в диагностике эссенциальной гипертензии в детском возрасте // Бюллетень СО РАМН. № 2. С. 49–53.
6. Глотов А. С., Иващенко Т. Э., Образцова Г. И. и др., 2007. Зависимость между возникновением стабильной артериальной гипертензии у детей и полиморфизмом генов ренин-ангиотензиновой и кинин-брадикининовой систем // Молекулярная биология. Т. 41. № 1. С. 18–25.
7. Грищенко В. И., Грищенко Н. Г., Загребельная И. В. и др., 2001. Синдром поликистозных яичников как причина эндокринного бесплодия // Медицинские аспекты здоровья женщины. URL: <http://woman.health-ua.com/article/303.html> (дата обращения: 15.06.11).
8. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д., 1984. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 480 с.
9. Малышева О. В., Мозговая Е. В., Демин Г. С. и др., 2003. Ассоциация полиморфных аллелей генов *ACE* и *eNOS* с развитием гестозов // Медицинская генетика. № 2. С. 78–82.
10. Образцова Г. И., Черемных Т. В., Ковалев Ю. Р. и др., 2005. Результаты суточного мониторирования артериального давления у детей и подростков с повышенным уровнем АД, обнаруженном при казуальных измерениях // Артериальная гипертензия. Т. 12. № 2. С. 156–160.
11. Потемкин В. В., Троицкая С. Ю., Федотова Е. А., 2004. Роль наследственных факторов в развитии ожирения у женщин (клинико-генеалогический анализ) // Российский медицинский журнал. № 4. С. 8–9.
12. Пузырев В. П., 2008. Генетический взгляд на феномен сочетанной патологии у человека // Медицинская генетика. Т. 8. № 9. С. 3–9.
13. Ройтберг Г. Е. (ред.), 2007. Метаболический синдром. М.: МЕДпресс-информ. 224 с.
14. Сорвачева Т. Н., Петеркова В. А., Титова Л. Н. и др., 2006. Ожирение у подростков. Альтернативные подходы диетотерапии // Лечащий врач. № 4. С. 50–54.
15. Чазова И. У., Ильина Е. В., Терещенко С. Н., 2010. Поражение сердечно-сосудистой системы на фоне терапии лекарственными средствами, влияющими на аппетит и массу тела // Системные гипертензии. № 1. С. 47–51.
16. Beisiegel U., Weber W., Ihrke G., 1989. The LDL-receptor-related protein, LRR, is an apolipoprotein E-binding protein // Nature. Vol. 341. P. 162–164.
17. Bertina R. M., Koeleman B. P., Koster T., 1994. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C // Nature. Vol. 6475. P. 64–67.
18. Casas J. P., Cavalleri G. L., Bautista L. E. et al., 2006. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms

- and cardiovascular disease: a HuGE review // *Am. J. Epidemiol.* Vol. 164. № 10. P.921–935.
19. *Chappell S., Morgan L.*, 2006. Searching for genetic clues to the causes of pre-eclampsia // *Clinical Science.* Vol. 110. P. 443–458.
 20. *Chikosi A. B., Moodley J., Pegoraro R. J. et al.*, 2000. Apolipoprotein E polymorphism in South African Zulu women with preeclampsia // *Hypertens. Pregnancy.* Vol. 19. P. 309–314.
 21. *Chwalisz K., Garfield R. E.*, 2000. Role of nitric oxide in implantation and menstruation // *Hum. Reprod.* Vol. 3. P. 96–111.
 22. *Cook D. G., Cappuccio F. P., Atkinson R. W.*, 2001. Ethnic differences in fibrinogen levels: the role of environmental factors and the β -fibrinogen gene // *American Journal of Epidemiology.* Vol. 8. P.799–806.
 23. *Dekker G. A., de Vries JI. P., Doelitzsch P. M.*, 1995. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia // *Am. J. Obstet Gynecol.* Vol. 173. P.1042–1048.
 24. *Durán-Reyes G., Gómez-Meléndez M., Morali-de la Brena G. et al.*, 1999. Nitric oxide synthesis inhibition suppresses implantation and decreases cGMP concentration and protein peroxidation // *Life Sciences.* Vol. 21. P. 2259–2268.
 25. *Eichner J. E., Dunn S. T., Perveen G.*, 2002. Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a huge review // *Am. J. Epidemiol.* Vol. 155. № 6. P.487–495.
 26. *He Q., Zhang X., He S. et al.*, 2007. Higher Insulin, Triglycerides, and Blood Pressure With Greater Trunk Fat in Tanner 1 Chinese // *Obesity.* Vol. 15. P.1004–1011.
 27. *Hokanson J. E.*, 1997. Lipoprotein lipase gene variants and risk of coronary disease: a quantitative analysis of population-based studies // *Int. J. Clin. Lab. Res.* Vol.27. № 1. P.24–34.
 28. *Kim Y. J., Williamson R. A., Chen K. et al.*, 2001. Lipoprotein lipase gene mutations and the genetic susceptibility of preeclampsia // *Hypertension.* Vol.38. P.992–996.
 29. *Lowenstein C. J., Dinerman J. L., Snyder S. H.*, 1994. Nitric oxide: a physiologic messenger // *Ann. Intern. Med.* Vol. 3. P. 227–237.
 30. *Mahley R. W.*, 1988. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanded role in cell biology // *Science.* Vol. 240. P. 622–630.
 31. *Mahley R. W., Rall S. C.*, 2000. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein // *Genomics Hum.* Vol. 1. P. 507–537.
 32. *Maul H., Longo M., Saade G. R. et al.*, 2003. Nitric oxide and its role during pregnancy: from ovulation to delivery // *Curr. Pharm. Des.* Vol. 196. № 4. P. 359–80.
 33. *Miller S. A., Dykes D. D., Polesky H. F.*, 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // *Nucleic Acids Res.* Vol. 16. № 3. P.1215.
 34. *Nakaki T.*, 1994. Physiological and clinical significance of nitric oxide // *Keio J. Med.* Vol. 1. P. 15–26.
 35. *Nakayama M., Yasue H., Yoshimura M. et al.*, 1999. T-786-->C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm // *Circulation.* Vol. 99. № 22. P. 2864–2870.
 36. *Pereira T. V., Rudnicki M., Cheung B. M. et al.*, 2007. Three endothelial nitric oxide (NOS3) gene polymorphisms in hypertensive and normotensive individuals: meta-analysis of 53 studies reveals evidence of publication bias // *J. Hypertens.* Vol. 25. № 9. P. 1763–1774.
 37. *Radomski M. W., Moncada S.*, 1997. Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide // *Thromb. Haemost.* Vol. 70. P. 36–41.
 38. *Rossi G. P., Cesari M., Zanchetta M. et al.*, 2003. The T-786C endothelial nitric oxide synthase genotype is a novel risk factor for coronary artery disease in Caucasian patients of the GENICA study // *J. Am. Coll. Cardiol.* Vol. 41. № 6. P. 930–937.
 39. *Salah A., Khan M., Esmail N. et al.*, 2009. Genetic polymorphism of S447X lipoprotein lipase (LPL) and the susceptibility to hypertension // *J. Crit. Care.* Vol. 24. № 3. P. 11–14.
 40. *Searle N. R., Sahab P.*, 1992. Endothelial vasomotor regulation in health and disease // *Can. J. Anaesth.* Vol. 3921. P. 838–857.
 41. *Shimo-Nakanishi Y., Urabe T., Hattori N. et al.*, 2001. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk of atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese // *Stroke.* 2001. Vol. 32. № 7. P. 1481–1486.
 42. *Talmud P. J., Flavell D. M., Alfakih K. et al.*, 2007. The lipoprotein lipase gene serine 447 stop variant influences hypertension-induced left ventricular hypertrophy and risk of coronary heart disease // *Clinical science.* Vol. 112. № 12. P. 617–624.
 43. *Tang M. X., Maestre G., Tsai W. Y. et al.*, 1996. Relative risk of Alzheimer disease and age-at-onset distributions, based on APOE genotypes among elderly African Americans, Caucasians, and Hispanics in New York City // *Am. J. Hum. Genet.* Vol. 58. № 3. P. 574–84.
 44. *Tempfer C., Unfried G., Zeillinger R. et al.*, 2001. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in women with idiopathic recurrent miscarriage // *Hum Reprod.* Vol. 8. P. 1644–1647.
 45. *Utermann G.*, 1988. Apolipoprotein polymorphism and multifactorial hyperlipidaemia // *J. Inher. Metab. Dis.* Vol. 1. P. 74–86.
 46. *Yang R., Smolders I., Dupont A. G.*, 2011. Blood pressure and renal hemodynamic effects of angiotensin fragments // *Hypertens Res.* Vol. 6. P. 74–83.
 47. *Zintzaras E., Kitsios G., Stefanidis I.*, 2006. Endothelial NO synthase gene polymorphisms and hypertension: a meta-analysis // *Hypertension.* Vol.48. № 4. P. 700–710.

ASSOCIATION STUDY OF *APOE*, *LPL* AND *NOS3* POLYMORPHISMS WITH THE RISK OF COMMON CARDIO PATHOLOGY IN CHILDREN AND PREGNANT WOMEN

Glotov A. S., Vashukova E. S., Kanaeva M. D., Dvoeglazova M. O., Danilova M. M., Pakin V. S., Marochkina E. J., Bikmullina D. R., Glebova M. A., Mahrova I. A., Obraztsova G. I., Glotov O. S., Zaynulina M. S., Ivashchenko T. E., Baranov V. S.

✿ **SUMMARY:** Polymorphisms of *APOE* (E2/E3/E4), *LPL* (1595C>G) and *NOS3* (-786T>C) in groups of pregnant women with and without

preeclampsia, in donors, in children with hypertension, children with obesity and metabolic syndrome, and in control children were studied by PCR/RFLP analysis. Statistically significant increase of T/C genotype frequency of *NOS3* in pregnant women with preeclampsia as well as in women with physiological pregnancy compared to this one in non-pregnant women of donors group was assessed (56%, 59% and 37%, respectively, $F < 0.03$).

✿ **KEY WORDS:** children; pregnant women; hypertension; obesity; metabolic syndrome; preeclampsia; polymorphism *APOE*, *LPL*, *NOS3* genes.

✿ Информация об авторах

Глотов Андрей Сергеевич — к. б. н., старший научный сотрудник. Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: anglotov@mail.ru.

Вашукова Елена Сергеевна — лаборант-исследователь. Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Канаева Мария Дмитриевна — студент. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9.

Двоглазова Мария Олеговна — студент. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9.

Данилова Мария Михайловна — студент. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9.

Марочкина Екатерина Юрьевна — лаборант-исследователь. Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Бикмуллина Дина Рустемовна — врач. Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Глебова Мария Андреевна — студент. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9.

Махрова Ирина Александровна — аспирант. ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия Минздрава России. 194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.

Образцова Галина Игоревна — врач-педиатр. ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия Минздрава России. 194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.

Glotov Andrey Sergeevich — candidate of biological scientist, senior scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line. E-mail: anglotov@mail.ru.

Vashukova Elena Sergeevna — scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line.

Kanaeva Maria Dmitrievna — student, Faculty of Biology and Soil Sciences, Saint-Petersburg State University. 199034, Russia, Saint-Petersburg, 7–9 Universitetskaya nab.

Dvoeglazova Maria Olegovna — student, Faculty of Biology and Soil Sciences, Saint-Petersburg State University. 199034, Russia, Saint-Petersburg, 7–9 Universitetskaya nab.

Danilova Maria Mihailovna — student, Faculty of Biology and Soil Sciences, Saint-Petersburg State University. 199034, Russia, Saint-Petersburg, 7–9 Universitetskaya nab.

Marochkina Ekaterina Yurevna — scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line.

Bikmullina Dina Rustemovna — obstetrician-gynecologist. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line.

Glebova Maria Andreevna — student, Faculty of Biology and Soil Sciences, Saint-Petersburg State University. 199034, Russia, Saint-Petersburg, 7–9 Universitetskaya nab.

Makhrova Irina Alexandrovna — PhD student. Saint-Petersburg State Pediatric Medical Academy. 194100, Russia, Saint-Petersburg, ul. Litovskaya, 2.

Obraztsova Galina Igorevna — pediatrician. Saint-Petersburg State Pediatric Medical Academy. 194100, Russia, Saint-Petersburg, ul. Litovskaya, 2.

Глотов Олег Сергеевич — к. б. н., старший научный сотрудник.

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН.

199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Зайнулина Марина Сабировна — д. м. н., главный врач, заместитель директора по лечебной и научной работе.

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН.

199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Иващенко Татьяна Эдуардовна — проф., д. б. н., ведущий научный сотрудник.

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН.

199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Баранов Владислав Сергеевич — д. м. н., профессор, член-корр РАМН. Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН.

199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Glotov Oleg Sergeevich — candidate of biological scientist, senior scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences.

199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line.

Zainulina Marina Sabirovna — doctor of medical sciences, head doctor, deputy director of medical and scientific work.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences.

199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line.

Ivashchenko Tatiana Eduardovna — professor, doctor of biological sciences, senior researcher.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences.

199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line.

Baranov Vladislav Sergeevich — professor, chl.-corr. Russian Academy of Medical Sciences, head of the laboratory, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences.

199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line.