

ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЦИТОЛОГИИ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»

УДК 577.218:618.39-06

СЕДЛЯР
Никита Геннадьевич

**ОЦЕНКА РИСКА НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ НА ОСНОВЕ
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика

Минск, 2022

Научная работа выполнена в Государственном научном учреждении «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» и Государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

**Научные
руководители:**

Моссэ Ирма Борисовна

доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории генетики человека Института генетики и цитологии НАН Беларуси

Дашкевич Элеонора Владимировна

кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией трансфузиологии Республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий

**Официальные
оппоненты:**

Можейко Людмила Федоровна

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии Белорусского государственного медицинского университета

Головатая Елена Ивановна

кандидат биологических наук, врач лабораторной диагностики клинико-диагностической генетической лаборатории государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»

**Оппонирующая
организация:**

Белорусский государственный университет

Защита состоится 02 февраля 2023 г. в 10³⁰ часов на заседании совета по защите диссертаций Д 01.31.01 при Институте генетики и цитологии НАН Беларуси по адресу 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27.

Тел.: (+375 17) 305 34 10, факс: (+375 17) 378 19 17, e-mail: O.Orlovskaya@igc.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института генетики и цитологии НАН Беларуси

Автореферат разослан 20 декабря 2022 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат биологических наук



О. А. Орловская

ВВЕДЕНИЕ

В условиях неблагоприятной демографической ситуации в большинстве развитых стран, в том числе и в Беларуси, проблема невынашивания беременности становится все более актуальной – ежегодно оканчивается неудачно одна из пяти желанных беременностей. Более 80% всех прерываний беременности происходит в первом триместре. Причины потерь беременности различны, в частности известны причины иммунологические, инфекционные, эндокринные и др. Но иногда врачи не могут объяснить, почему происходит выкидыш – женщина по всем медицинским показателям здорова, но раз за разом теряет беременность. В этих случаях причина может быть генетической.

Развитие беременности – это самый сложный физиологический процесс, в котором принимают участие гены многих систем организма, в частности гены систем гемостаза (тромбообразования), регуляции артериального давления, ангиогенеза (роста новых кровеносных сосудов) и фолатного цикла. Важное место среди факторов риска невынашивания беременности занимает носительство тех или иных аллелей генов, которые могут нарушать течение биохимических процессов в организме матери и способствовать прерыванию беременности.

В последнее время важными причинами невынашивания беременности стали считать именно наследственные факторы, и, в частности, наследственную тромбофилию. Во многих исследованиях показано наличие связи между генетической предрасположенностью к тромбофилии и увеличением риска развития осложнений во время беременности (привычное невынашивание, плацентарная недостаточность, задержка роста плода, поздний токсикоз и другие) [Блинецкая, 2009; Зарудская, 2013]. Один из механизмов, приводящих к ним – неправильное прохождение процессов имплантации и плацентации, важную роль в которых играют системы свертывания крови и фибринолиза. Нарушение в этих системах влечет за собой недостаточное обеспечение кислородом и питательными веществами развивающегося плода, в результате чего беременность прекращает развиваться.

На сегодняшний день существует большое количество данных, подтверждающих роль полиморфизма отдельных генов в развитии гестационных осложнений, в том числе и невынашивания [Садекова, 2012]. Широко обсуждаются причинно-следственные связи между Лейденской мутацией, мутацией в гене протромбина (*G20210A* гена *FII*), полиморфными вариантами *C677T* гена *MTHFR*, *4G/5G* гена *PAI* и развитием различных осложнений: гестоза тяжелой степени, задержки внутриутробного развития плода, преждевременной отслойки плаценты и пр. В то же время не вызывает сомнений участие в процессах беременности не только генов системы тромбообразования и метаболизма фолатов, но также и генов системы регуляции артериального давления и системы ангиогенеза.

Большое значение в формировании генетического риска потери беременности имеет не только носительство отдельных аллелей риска, но и их взаимодействие друг с другом. В связи с этим очевидна необходимость исследований комплексов генов, что позволит расширить представления о вкладе генетического полиморфизма в патогенез невынашивания беременности. Это обеспечит новый подход к диагностике данной патологии и более корректное определение уровня генетического риска репродуктивных потерь.

Общепринята точка зрения, что обследование супругов необходимо начинать после трех повторных выкидышей. Некоторые ученые отмечают необходимость обследования супругов уже после одного выкидыша. Однако с генетической точки зрения оценить репродуктивные способности женщины можно и даже желательно уже при планировании первой беременности, а также перед проведением процедуры ЭКО, чтобы в случае высокого генетического риска принять профилактические меры для сохранения плода.

Молекулярно-генетическое тестирование позволяет определить уровень риска прерывания беременности для каждой конкретной женщины. Выявление высокого риска служит сигналом медицинским работникам для принятия профилактических мер и проведения должного мониторинга ее течения. Эффекты выявленных неблагоприятных вариантов генов могут быть скорректированы с помощью соответствующих фармакологических средств, что способствует нормальному протеканию беременности вплоть до успешных родов и имеет огромное социальное и экономическое значение.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами) и темами.

Диссертационная работа выполнялась в рамках мероприятия 15 «Разработать и внедрить методы оценки риска и медицинской профилактики невынашивания беременности на основе молекулярно-генетического анализа» государственной программы «Научные технологии и техника» на 2016-2020 годы подпрограммы 1 «Инновационные биотехнологии 2020» (раздел «Геномные и постгеномные биотехнологии»; 2017–2019 гг.; № ГР 20171077).

Тема соответствует приоритетным направлениям научных исследований и научно-технической деятельности Республики Беларусь на 2016-2020 годы, отраженным в п. 3 «Биологические системы и технологии» постановления Совета Министров Республики Беларусь №190 от 12 марта 2015 г. и в п. 4 «Медицина, фармацевтика, медицинская техника: технологии профилактики, диагностики и лечения заболеваний, охрана здоровья матери и ребенка» указа Президента Республики Беларусь №166 от 22 апреля 2015 г.

Цель и задачи исследования.

Цель работы: разработать молекулярно-генетическую технологию количественной оценки риска невынашивания беременности.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить и сравнить частоты встречаемости полиморфных вариантов генов-кандидатов систем гемостаза, ангиогенеза, метаболизма фолатов и регуляции артериального давления в группе женщин с привычными выкидышами (пациенток) и в группе сравнения.

2. Выявить неблагоприятные аллельные варианты генов-кандидатов, которые обладают наибольшей прогностической значимостью для определения генетической предрасположенности к невынашиванию беременности.

3. Выявить наиболее информативные комплексы генов риска потери беременности.

4. Разработать молекулярно-генетическую технологию количественной оценки риска невынашивания беременности.

Объект исследования: образцы тотальной ДНК, выделенные из мазков буккального эпителия или цельной крови.

Предмет исследования: аллельные варианты генов-кандидатов систем гемостаза, ангиогенеза, регуляции артериального давления и регуляции метаболизма фолатов.

Научная новизна. Впервые проведена многосторонняя оценка роли полиморфных вариантов генов систем гемостаза, ангиогенеза, метаболизма фолатов и регуляции артериального давления в нарушении физиологического процесса беременности, что расширяет представления о вкладе генетического полиморфизма в патогенез невынашивания. Определены частоты полиморфизмов генов риска преждевременных потерь беременности в белорусской популяции. Впервые дана оценка роли взаимодействия генов и установлена прогностическая значимость не только отдельных аллелей генов, но и их сочетаний для оценки предрасположенности к невынашиванию беременности. На основании этих данных разработана уникальная технология количественной оценки риска невынашивания беременности на основе молекулярно-генетического анализа.

Положения, выносимые на защиту:

1. В генотипах женщин с привычными выкидышами количество генетических факторов риска потери беременности существенно выше, чем в генотипах контрольной группы. Наиболее значимыми полиморфными вариантами генов, повышающими риск невынашивания беременности, являются аллельные варианты $G/T + T/T$ гена *EPO* ($p = 0,03$; $OR = 1,82$), аллели $E4 + E2$ гена *APOE* ($p = 0,02$; $OR = 1,25$) и аллель- C гена *ITGB3* ($p = 0,02$; $OR = 1,66$). Эти аллельные варианты генов являются маркерами генетической предрасположенности к потере беременности.

2. Уровень риска потери беременности зависит не только от количества в генотипе отдельных неблагоприятных аллельных вариантов генов, но также от их взаимодействия. Вклад комплексов генов систем гемостаза, ангиогенеза, регуляции артериального давления и метаболизма фолатов в процесс развития беременности существенно превышает аналогичный вклад отдельных полиморфных вариантов генов. Выявленные 11 комплексов неблагоприятных полиморфизмов (из проанализированных 3 764 376 сочетаний) вносят наибольший вклад в риск потери беременности.

3. Написанная на языке программирования R в среде RStudio уникальная компьютерная программа позволила автоматизировать процесс поиска прогностически значимых комплексов генов риска, выявлять наиболее информативные сочетания генов, что существенно повышает эффективность и корректность оценки риска развития патологии.

4. Разработанная технология, основанная на молекулярно-генетическом анализе генов систем гемостаза, ангиогенеза, регуляции артериального давления и метаболизма фолатов, дает возможность количественно (с помощью системы баллов) определять уровень риска невынашивания беременности для каждой женщины. Оценка в баллах как отдельных вариантов генов риска, так и их комплексов, позволяет определить, во сколько раз повышена вероятность потери беременности, что служит основанием для проведения медицинскими работниками профилактики и/или терапевтической коррекции возможных осложнений для предотвращения репродуктивных потерь.

Личный вклад соискателя ученой степени. Выбор темы и дизайна исследования, а также обсуждение полученных результатов осуществлялось совместно с научными руководителями проф. Моссэ И.Б. и к.м.н. Дашкевич Э.В. Разработка методов исследования и проведение экспериментальной работы выполнены соискателем лично. Разработка компьютерной программы для автоматизации поиска информативных комплексов генов, статистическая обработка данных и их интерпретация, выполнены самим диссертантом.

Автор выражает искреннюю благодарность научным руководителям проф. Моссэ И.Б. и к.м.н. Дашкевич Э.В., а также всем сотрудникам лаборатории генетики человека Института генетики и цитологии НАН Беларуси за конструктивное обсуждение полученных результатов, консультации и неоценимую помощь в подготовке диссертационной работы.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов. Результаты диссертационной работы были представлены на II Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (Минск, 2015); III Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (Минск, 2016); Международном симпозиуме по геномике,

приуроченный к Году науки в Республике Беларусь (Минск, 2017); IV Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (Минск, 2020).

Разработана, утверждена Министерством здравоохранения РБ и опубликована Инструкция по применению «Метод определения вероятности невынашивания беременности» (176-1220 от 29 декабря 2020 г.).

Результаты диссертационной работы внедрены в работу Республиканского Центра геномных биотехнологий Института генетики и цитологии НАН Беларуси (за период с 09.12.2020 по 06.06.2022 года разработано 770 генетических паспортов на общую сумму 270 052 руб., акт о внедрении результатов НИР от 06 июня 2022 г.), в работу государственного учреждения «Республиканский научно-практического центр «Мать и дитя» в отделение экстрагенитальной патологии беременности (акт внедрения от 30 ноября 2021 г.), используются в учебном процессе в ГомГМУ по профилям субординатуры (акушерство и гинекология), дисциплина «Внутренние болезни» (акт от 18 апреля 2022 г.).

Опубликованность результатов диссертации. По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК Республики Беларусь, 3 статьи в других изданиях, 7 тезисов докладов в сборниках материалов конференций, 1 инструкция по применению. Объем опубликованного материала по теме диссертации в соответствии с пунктом 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь составляет 2,4 авторских листа.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 117 страницах машинописного текста, состоит из введения, общей характеристики работы, 5 глав, заключения, библиографического списка, 2 приложений. Список использованных источников включает 254 источника, в том числе 173 на иностранном языке. Диссертация иллюстрирована 20 таблицами и 20 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Биологическим материалом для исследования служили образцы буккального эпителия и цельной крови. В группу пациентов отобрано 2952 образца ДНК женщин с невыясненными причинами невынашивания беременности (2 и более потерянные беременности, нет детей). В контрольную группу отобрано 646 образцов ДНК женщин без патологий беременности, имеющих не менее двух благополучно выношенных и рожденных детей, без

патологий вынашивания беременности в анамнезе. От каждого человека получено информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

ДНК выделяли из клеток буккального эпителия с помощью коммерческого набора «Нуклеосорб А» производства «Праймтех», Беларусь. Выделение ДНК из цельной крови проводили с помощью коммерческого набора «NucleoMag Blood 200 μ L, №744501.1» производства «Macherey-Nagel», Германия.

Генотипирование исследуемых образцов ДНК проводили с помощью метода ПЦР в реальном времени с применением праймеров, фланкирующих участок ДНК, содержащий анализируемый полиморфизм, и аллель-специфичных зондов.

Генотипирование проводилось по 31 полиморфному варианту генов различных систем (гемостаза, ангиогенеза, регуляции артериального давления и метаболизма фолатов), ассоциированных с процессами развития беременности (таблица 1).

Таблица 1. – Панель генов для тестирования генетического риска невынашивания беременности

Название гена	Полиморфный вариант	Полное название гена	rs
Гены системы гемостаза			
<i>FI</i>	Thr312Ala	ген α -цепи фибриногена I фактора свертывания крови	6050
<i>FII</i>	G20210A	ген II фактора свертывания крови (протромбина)	1799963
<i>FV</i>	G1691A	ген V фактора свертывания крови	6025
<i>FXIII</i>	Val34Leu	ген XIII фактора свертывания крови	5985
<i>FXI</i>	C/T	ген XI фактора свертывания крови	2289252
<i>FXI</i>	T/C		2036914
<i>FGG</i>	C10034T	ген гамма-цепи фибриногена	2066865
<i>ITGA2 (GPIa)</i>	C807T	ген белка-альфа-2-мембранного гликопротеина	1126643
<i>ITGB3 (GpIIIa)</i>	T1565C (L33P)	ген белка интегрин бета-3	5918
<i>Gp6</i>	G/T	ген рецептора гликопротеина VI	1671153
<i>Gp6</i>	A/G		1654419
<i>Gp6</i>	A/G		1613662
<i>GP1BA</i>	C/T	ген тромбоцитарного гликопротеина Ib	2243093
Гены системы регуляции артериального давления			
<i>ACE</i>	Alu Ins/Del	ген ангиотензин-превращающего фермента	4646994
<i>eNOS</i>	4a/4b	ген эндотелиальной синтазы окиси азота	61722009
<i>eNOS</i>	G894T		1799983
<i>PPARG</i>	Pro12Ala	ген гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом	1801282
<i>PPARGC1A</i>	G1564A	ген коактиватора ядерных рецепторов генов семейства PPAR	8192678
<i>PPARD</i>	+294T/C	ген дельта-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом	2016520
<i>PPARA</i>	G2528C		4253778
<i>AGTRI</i>	A1166C	ген сосудистого рецептора I типа ангиотензина-2	5186

Продолжение таблицы 1

<i>BDKRB2</i>	I/D	ген рецептора брадикинина $\beta 2$	5810761
<i>APOE</i>	Cys112Arg Arg158Cys	ген аполипопротеина E	429358 7412
Гены системы ангиогенеза			
<i>PAI-1</i>	4G/5G	ген ингибитора активатора плазминогена	1799889
<i>VEGF</i>	G634C	ген фактора роста эндотелия сосудов	2010963
<i>HIF1A</i>	C1772T	ген фактора, индуцируемого гипоксией	11549465
<i>EPO</i>	G3876T	ген рецептора эритропоэтина	1617640
<i>CYBA</i>	C/T	ген альфа-цепи цитохрома B-245	4673
Гены системы регуляции фолатов			
<i>MTHFR</i>	C677T	ген метилентетрагидрофолатредуктазы	1801133
<i>MTHFR</i>	A1298C		1801131
<i>MTR</i>	A2756G	ген метионин-синтазы	1805087

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью F-критерия Фишера в среде R. Оценку влияния полиморфных вариантов на риск развития заболевания проводили с помощью отношения шансов (OR). Результаты анализа считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Характер распределения наблюдаемых частот генотипов в популяции оценивали на соответствие уравнению Харди-Вайнберга. При сравнении количества факторов риска невынашивания беременности в генотипах пациенток и в генотипах женщин контрольной группы проводилась проверка нулевой гипотезы с помощью теста Манна-Уитни для независимых выборок при отклонении от нормального распределения, t-test (Стьюдента) при нормальном распределении.

Выявление отдельных факторов риска невынашивания беременности и их комплексов в генотипах пациенток и в контрольной группе

В таблице 2 представлены результаты сравнения частот аллелей и аллельных вариантов исследованных генов, в распределении которых были выявлены статистически значимые различия между группой пациенток и контроля.

Таблица 2. – Частоты полиморфизмов исследованных генов системы гемостаза, ангиогенеза и артериального давления в группе пациенток (n^1) и в контроле (n^2)

Ген, полиморфный вариант	Аллельный вариант, аллель	Частота, %		p	OR	95% CI
		Пациентки	Контрольная группа			
<i>ITGB3</i> T/C rs5918 $n^1 = 157$ $n^2 = 179$	T/T	62,42	74,86	0,018	0,56	0,34–0,91
	T/C	35,03	24,02	0,031	1,70	1,03–2,82
	C/C	2,55	1,12	0,424	2,31	0,33–25,85
	T/C + C/C vs T/T	37,58	25,14	0,018	1,79	1,09–2,94
	T	79,94	86,87	0,016	0,60	0,39–0,93
	C	20,06	13,13		1,66	1,08–2,57

Продолжение таблицы 2

<i>EPO</i> G3876T n ¹ = 166 n ² = 204	<i>G/G</i>	14,46	23,53	0,034	0,55	0,31–0,97
	<i>G/T</i>	48,19	43,14	0,346	1,23	0,80–1,89
	<i>T/T</i>	37,35	33,33	0,445	1,19	0,76–1,87
	<i>G/T + T/T vs G/G</i>	85,54	76,47	0,034	1,82	1,03–3,27
	<i>G</i>	38,55	45,10	0,085	0,76	0,56–1,04
	<i>T</i>	61,45	54,90		1,31	0,96–1,78
<i>APOE</i> Cys112Arg; Arg158Cys n ¹ = 2314 n ² = 523	<i>E3/E3</i>	64,48	69,41	0,033	0,80	0,65–0,99
	<i>E3/E4</i>	18,06	16,63	0,486	1,10	0,85–1,44
	<i>E3/E2</i>	13,66	11,85	0,286	1,18	0,88–1,60
	<i>E2/E4</i>	2,16	0,96	0,079	2,29	0,91–7,39
	<i>E4/E4</i>	0,86	0,57	0,786	1,51	0,45–7,97
	<i>E2/E2</i>	0,78	0,57	0,783	1,36	0,39–7,23
	<i>E3</i>	80,34	83,65	0,015	0,80	0,66–0,96
	<i>E4</i>	10,98	9,37	0,135	1,19	0,95–1,51
	<i>E2</i>	8,69	6,98	0,073	1,27	0,98–1,67
	<i>E4 + E2 vs E3</i>	19,67	16,35	0,015	1,25	1,04–1,51

Как видно из таблицы 2, частоты только трех из всех исследованных полиморфных вариантов генов существенно различаются между группами. Согласно полученным данным, носительство аллельного варианта *T/C* полиморфного варианта *T/C* (rs5918) гена *ITGB3* статистически значимо увеличивает риск невынашивания беременности в 1,70 раз ($p = 0,031$; OR = 1,70; 95% CI = 1,03–2,82). Понятно, что гомозигота *C/C* также является фактором риска, хотя данные и недостоверны из-за малых значений частот этого минорного аллельного варианта (2,55% против 1,12%), тем более что превышение частоты *C*-аллеля в генотипах пациенток статистически достоверно ($p = 0,016$; OR = 1,66; 95% CI = 1,08–2,57).

Распределение частот аллельных вариантов *G/T + T/T* гена *EPO* статистически значимо отличается в группе пациенток по сравнению с контрольной группой ($p = 0,034$; OR = 1,82; 95% CI = 1,03–3,27). Аллельный вариант *G/G* полиморфного варианта G3876T гена *EPO* является протекторным и уменьшает риск неблагоприятного исхода беременности ($p = 0,034$; OR = 0,55; 95% CI = 0,31–0,97), прослеживаются различия на уровне тенденции в распределении частот аллелей *G* и *T* ($p = 0,085$).

В ходе проведенного анализа распределения частот аллелей *E4*, *E3* и *E2* полиморфизма Cys112Arg + Arg158Cys гена *APOE* были выявлены статистически значимые различия – аллели *E4 + E2* встречались значимо чаще в группе пациенток по сравнению с контрольной группой ($p = 0,015$; OR = 1,25; 95% CI = 1,04–1,51). Аллель *E3* встречался статистически значимо чаще в группе контроля по сравнению с группой пациентов ($p = 0,015$; OR = 0,80; 95% CI = 0,66–0,96).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о невысоком (статистически редко выявляемом) вкладе отдельных генных вариантов в риск потери беременности. Тем не менее, в результате сравнения количества исследованных генетических факторов риска генов-кандидатов в исследуемых выборках установлено, что количество факторов риска в генотипах пациенток статистически значимо больше, чем в генотипах контрольной группы ($p = 0,0002$; рисунок 1).

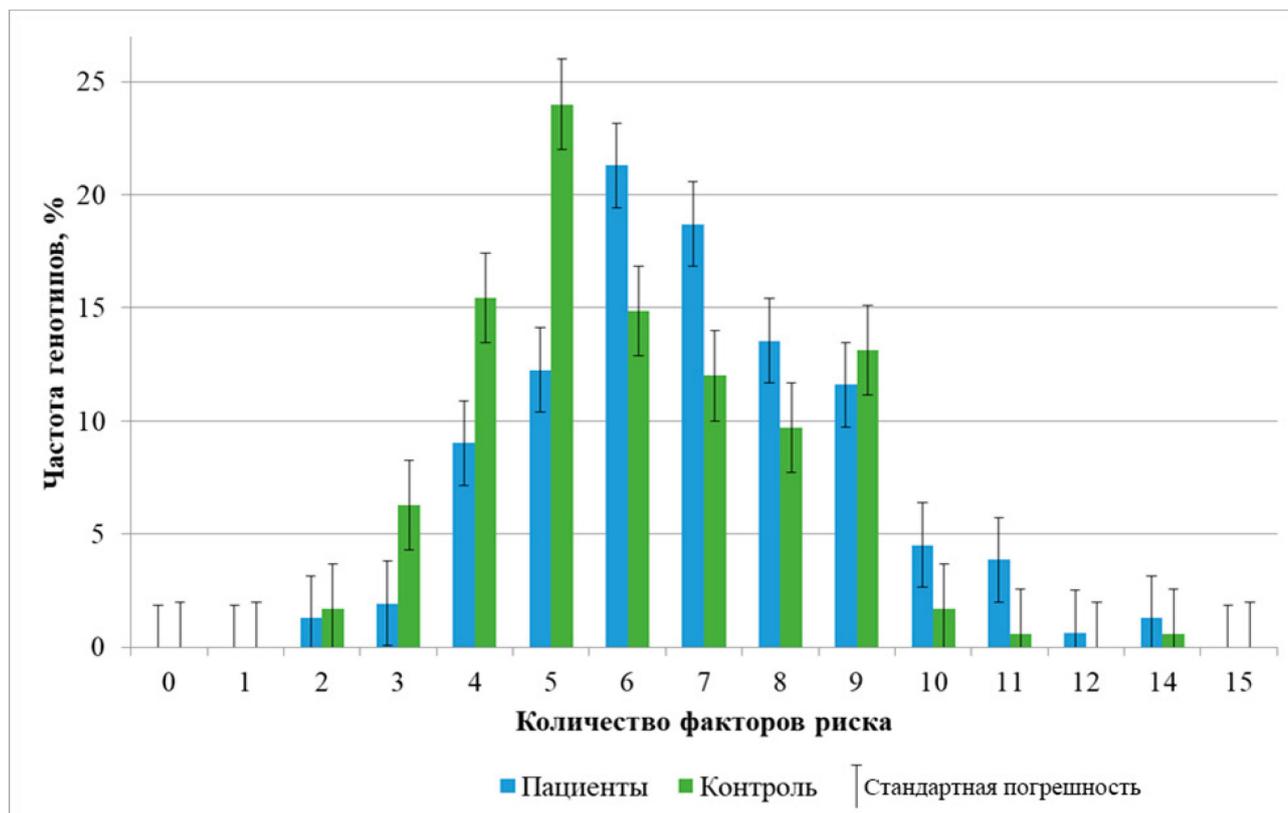


Рисунок 1. – Распределение частот генотипов (в %) с разным количеством факторов риска невынашивания беременности в контрольной группе и группе пациенток

При этом в группе пациенток генотипы с количеством факторов от 2 до 5 встречаются в 25,4% случаев, в контрольной группе – в 47,5%. От 6 до 9 факторов риска в генотипе в группе пациенток в 65,2% случаев, в контрольной группе – в 49,7%. От 10 до 14 факторов риска в генотипе в группе пациенток встречается в 10,3% случаев, а в контрольной группе только в 2,8%. Таким образом, чем больше в генотипе аллельных вариантов, ассоциированных с нарушениями течения беременности, тем выше риск невынашивания.

Известны многочисленные свидетельства существенной роли взаимодействия генов – эффект совместного влияния генов часто во много раз превосходит сумму их отдельных эффектов. В этой связи мы проанализировали влияние комплексов различных аллельных вариантов генов на риск потери беременности.

С целью автоматизации процесса поиска прогностически значимых комплексов была разработана специальная компьютерная программа. С ее помощью проанализировано 3 764 376 комплексов генов, и в результате статистического анализа выявлено 11 наиболее информативных комплексов генов риска потери беременности (таблица 3).

Таблица 3. – Наиболее информативные комплексы генов риска потери беременности

Комплекс генов: аллельный вариант (ген и полиморфный вариант)	Доля		p	OR	95% CI
	паци- енток	кон- троля			
<i>CC (F11 T/C) + GT (eNOS G894T)</i>	17,83	8,99	0,023	2,19	1,09–4,54
<i>ID (ACE) + GT (eNOS G894T)</i>	29,30	19,66	0,031	1,75	1,03–3,00
<i>TC (ITGB3) + GA (PPARGC1A)</i>	15,29	7,87	0,037	2,15	1,02–4,70
<i>TC (ITGB3) + TC (PPARD)</i>	10,19	3,93	0,029	2,78	1,05–8,22
<i>ValLeu (F13) + 4G4G (PAI-1)</i>	20,38	11,80	0,025	1,98	1,05–3,81
<i>E3E4 (APOE) + 4G4G (PAI-1)</i>	8,92	2,81	0,017	3,49	1,15–12,68
<i>ValLeu (F13) + TC (ITGB3)</i>	15,29	6,74	0,013	2,50	1,15–5,71
<i>ID (ACE) + ValLeu (F13) + GT (eNOS G894T)</i>	14,01	7,30	0,048	2,13	0,98–4,78
<i>TT (EPO) + CC (F11 T/C) + GT (eNOS G894T)</i>	8,28	2,81	0,030	3,11	1,01–11,42
<i>ID (ACE) + CC (F11 T/C) + GT (eNOS G894T)</i>	11,46	2,81	0,002	4,46	1,55–15,77
<i>ID (ACE) + TT (EPO) + CC (F11 T/C)</i>	9,55	2,81	0,011	3,66	1,23–13,20

Частоты встречаемости выявленных комплексов факторов риска в сравниваемых группах статистически значимо различаются, что доказывает связь риска потери беременности с генотипами женщин (OR от 1,75 до 4,46). При этом аллельный вариант *GT (eNOS G894T)* присутствует в 5 из 11 выявленных комплексов риска, *CC (F11 T/C)* и *ID (ACE)* – в 4 комплексах, *ValLeu (F13)* и *TC (ITGB3)* – в 3-х, что может свидетельствовать о существенном вкладе этих генных полиморфных вариантов в нарушение процесса беременности.

Разработка технологии количественного определения риска невынашивания беременности

Полученные результаты сравнения частот отдельных факторов риска и их комплексов в сравниваемых группах были использованы для разработки технологии количественного определения риска невынашивания беременности.

Для оценки риска были отобраны те полиморфные варианты генов, частоты которых были выше в группе пациенток по сравнению с контрольной группой или которые участвовали в прогностически значимых комплексах генов. Таких факторов риска оказалось 25 (таблица 4).

Таблица 4. – Отобранные для определения генетического риска потери беременности полиморфные варианты генов

Ген, полиморфный вариант	Ген, полиморфный вариант	Ген, полиморфный вариант
<i>MTHFR</i> A1298C	<i>PPARD</i> +294T/C	<i>ITGA2</i> C/T rs1126643
<i>MTHFR</i> C677T	<i>PPARGC1A</i> G1564A	<i>ITGB3</i> T/C rs5918
<i>PAI</i> 4G/5G	<i>AGTR1</i> A/C rs5186	<i>GP1BA</i> C/T rs2243093
<i>VEGF</i> G-634C	<i>APOE</i> Cys112Arg; Arg158Cys	<i>HIF</i> G3876T
<i>EPO</i> G3876T	<i>F1</i> Thr312Ala	<i>F11</i> C/T rs2289252
<i>CYBA</i> C/T rs4673	<i>F2</i> G20210A	<i>F11</i> T/C rs2036914
<i>ACE</i> Alu Ins/Del	<i>F5</i> Arg506Gln	<i>FVII</i> G10976A
<i>eNOS</i> 4a/4b	<i>F13</i> Val34Leu	-
<i>eNOS</i> G894T	<i>FGG</i> C/T rs2066865	-

Для удобства расчетов риск гомозиготного варианта был условно оценен в 10 баллов, а гетерозиготного, соответственно – в 5 баллов. На гистограмме, представленной на рисунке 2, показано распределение генотипов в группе пациенток и контрольной группе с разным суммарным числом неблагоприятных вариантов генов, оцененных в баллах ($p = 0,001$).

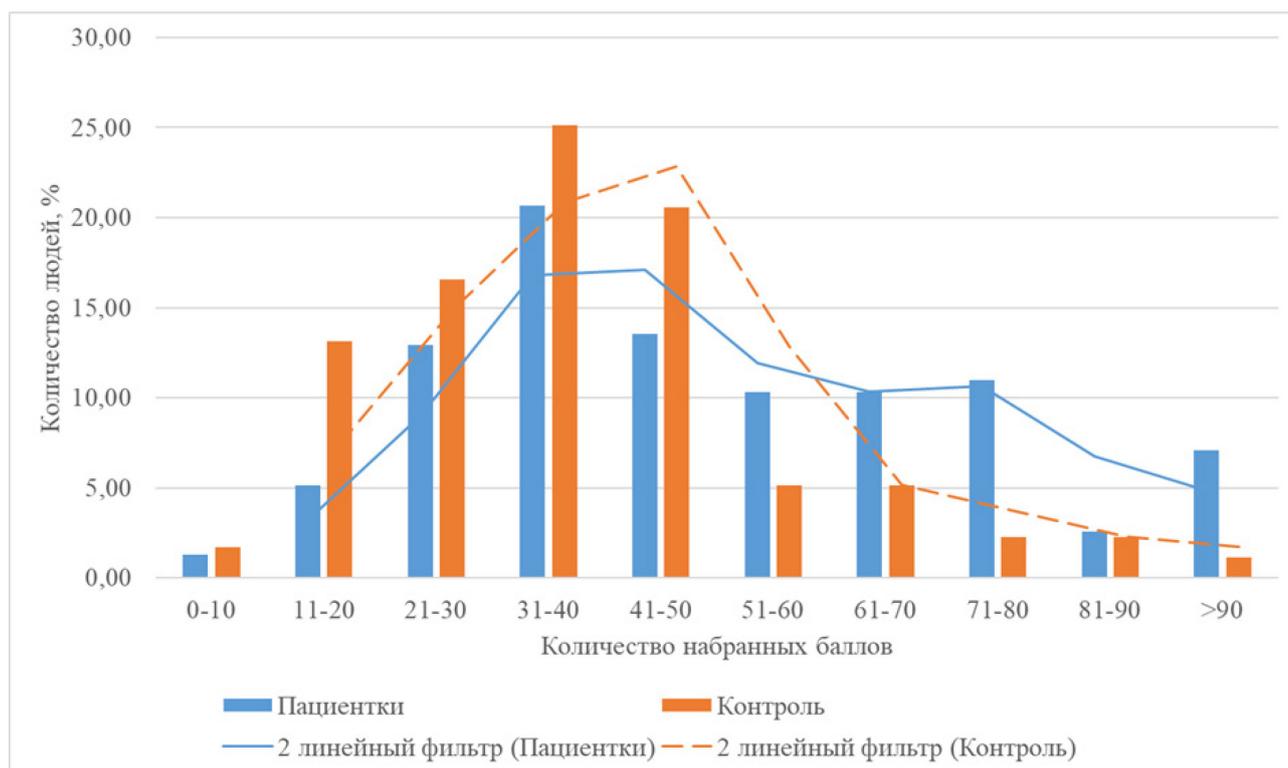


Рисунок 2. – Распределение в группе пациенток и контрольной группе генотипов с разным суммарным числом баллов, соответствующих сумме неблагоприятных вариантов генов без учета комплексов генов

При этом видно, что сумма баллов риска подавляющей части генотипов контрольной группы (~80%) составляет не более 50 баллов, а у ~85% пациенток сумма баллов доходит до 80 и более.

Количество баллов, присвоенных каждому комплексу генов, рассчитывалось исходя из OR, приведенных в таблице 3. Для исключения дробной части балла и удобства расчетов OR умножали на 10 с округлением.

На гистограмме, представленной на рисунке 3, показано распределение генотипов с разным числом баллов соответственно комплексам генов риска потерь беременности (без учета баллов отдельных полиморфных вариантов генов), в группе пациенток и контрольной группе ($p < 0,001$). При этом сумма баллов риска подавляющей части генотипов контрольной группы (~90%) составляет не более 78 баллов, а у ~90% пациенток сумма баллов доходит до 130 и более.

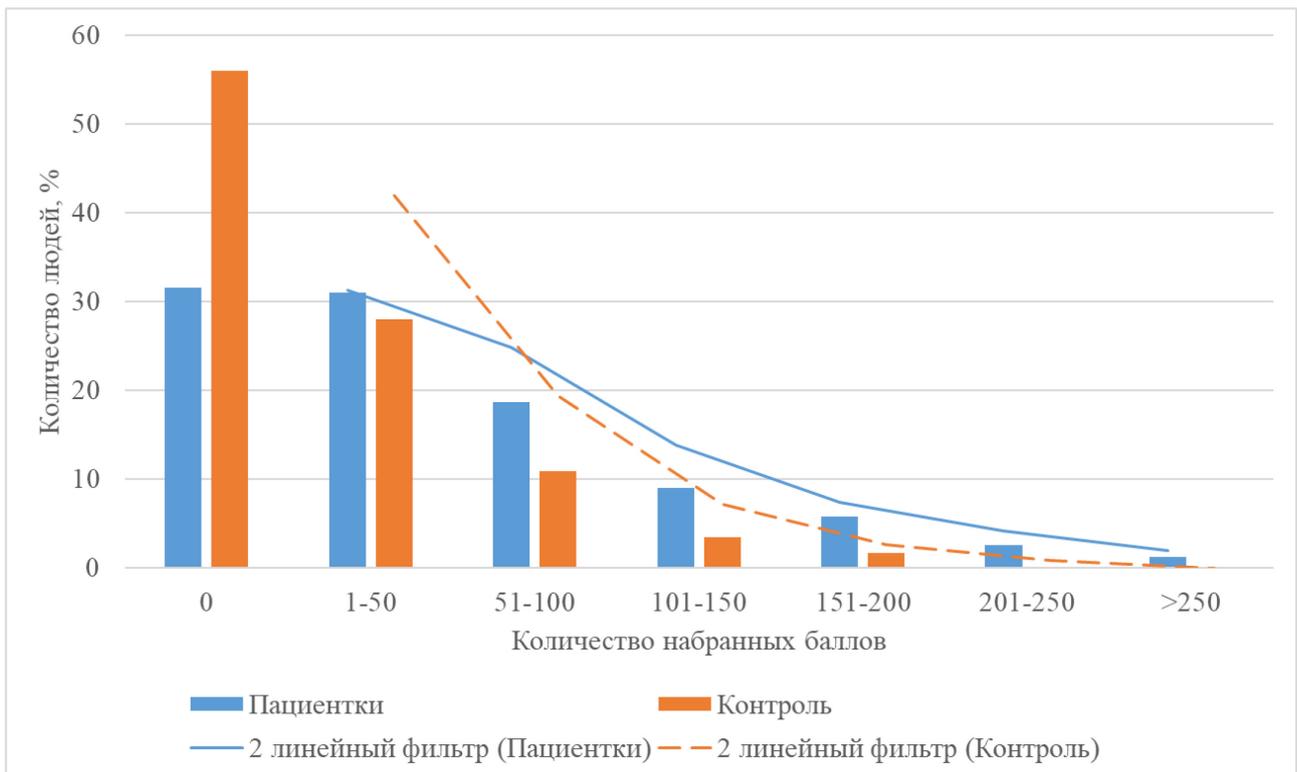
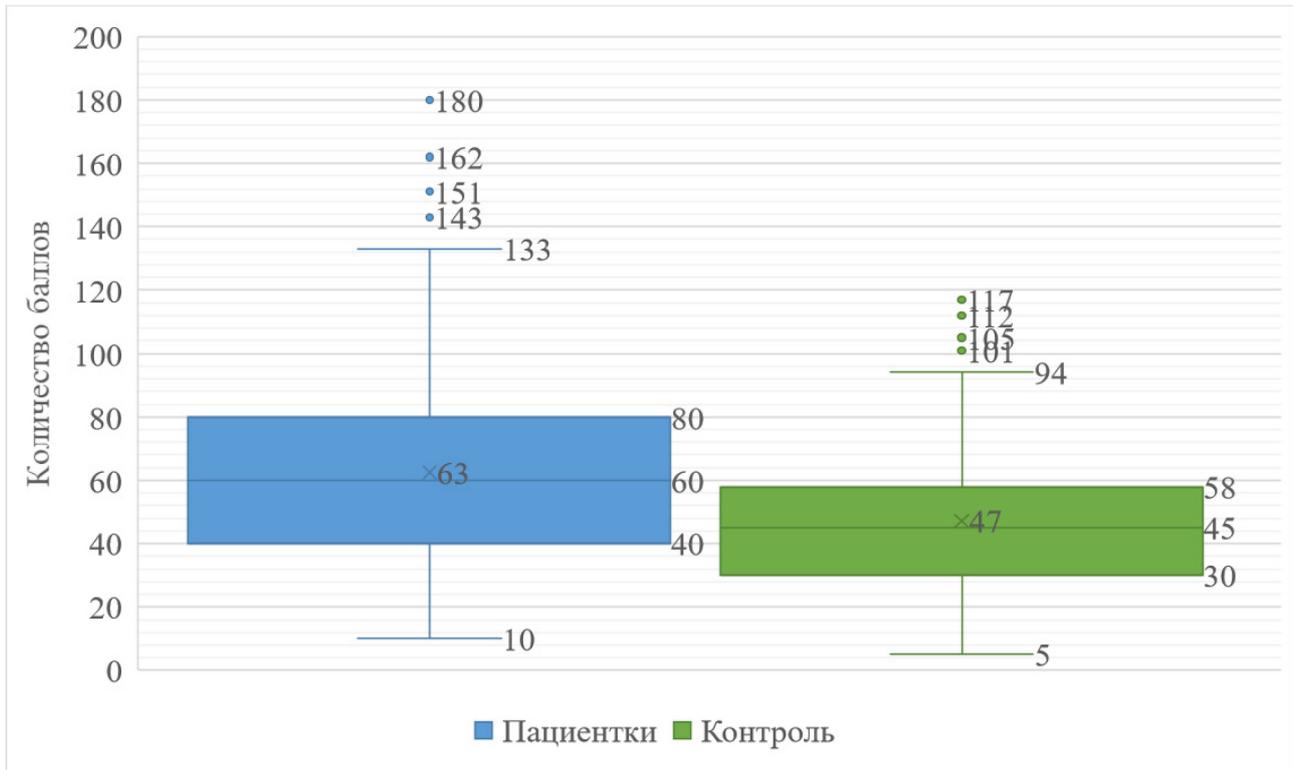


Рисунок 3. – Распределение генотипов с разным числом баллов соответственно комплексам генов риска потерь беременности в группах пациенток и контроля

Разработанная система балльной оценки позволяет подсчитать индивидуальную сумму баллов риска невынашивания беременности с учетом числа баллов риска по отдельным генам и по комплексам генов. Если в генотипе женщины встречается один или несколько комплексов факторов риска, то полиморфизмы генов, входящие в эти комплексы, не учитываются при подсчете суммы баллов отдельных генов риска, что позволяет избежать дублирования вклада одних и тех же факторов риска.

На графике Box Plot, представленном на рисунке 4, показано распределение суммарных баллов риска в группе пациенток и контрольной группе с учетом риска отдельных генов и комплексов ($p < 0,001$). В контрольной группе медиана

равна 45 баллам, следовательно, количество баллов выше 45 свидетельствует о повышенном риске невынашивания.



x – среднее значение; □ – 50% выборки; I– 20% выборки; • – выбросы

Рисунок 4. – Распределение суммарных баллов риска в группах пациенток и контроля

Чем больше количество баллов, тем выше риск, процент которого можно рассчитать в каждом конкретном случае. Индивидуальный риск невынашивания беременности рассчитывается в процентах по сравнению с контрольной величиной. В случае выявления высокого риска патологии результаты молекулярно-генетического анализа служат основанием для проведения необходимых профилактических и/или лечебных медицинских мероприятий, что позволяет сохранить беременность и успешно родить ребенка.

Для того, чтобы определить результативность использования генетического тестирования для выявления риска осложнений беременности, а также возможности медицинской их профилактики, был проведен опрос 2000 женщин с привычным невынашиванием беременности, прошедших генетическое тестирование в лаборатории генетики человека Института генетики и цитологии НАН Беларуси более 1,5 лет назад. Респондентам предлагалось ответить на 4 вопроса: 1. Удалось ли вам забеременеть за период после генетического тестирования (да/нет)? 2. Родили ли вы за это время ребенка (да/нет)? 3. Применяли ли врачи лечение на основе генетического паспорта (да/нет)? 4. Как вы считаете, генетический паспорт оказался полезен (да/нет)?

Всего было получено 1492 ответа. Обеспечивалась всесторонняя конфиденциальность полученных данных. На рисунке 5 представлены результаты проведенного опроса.

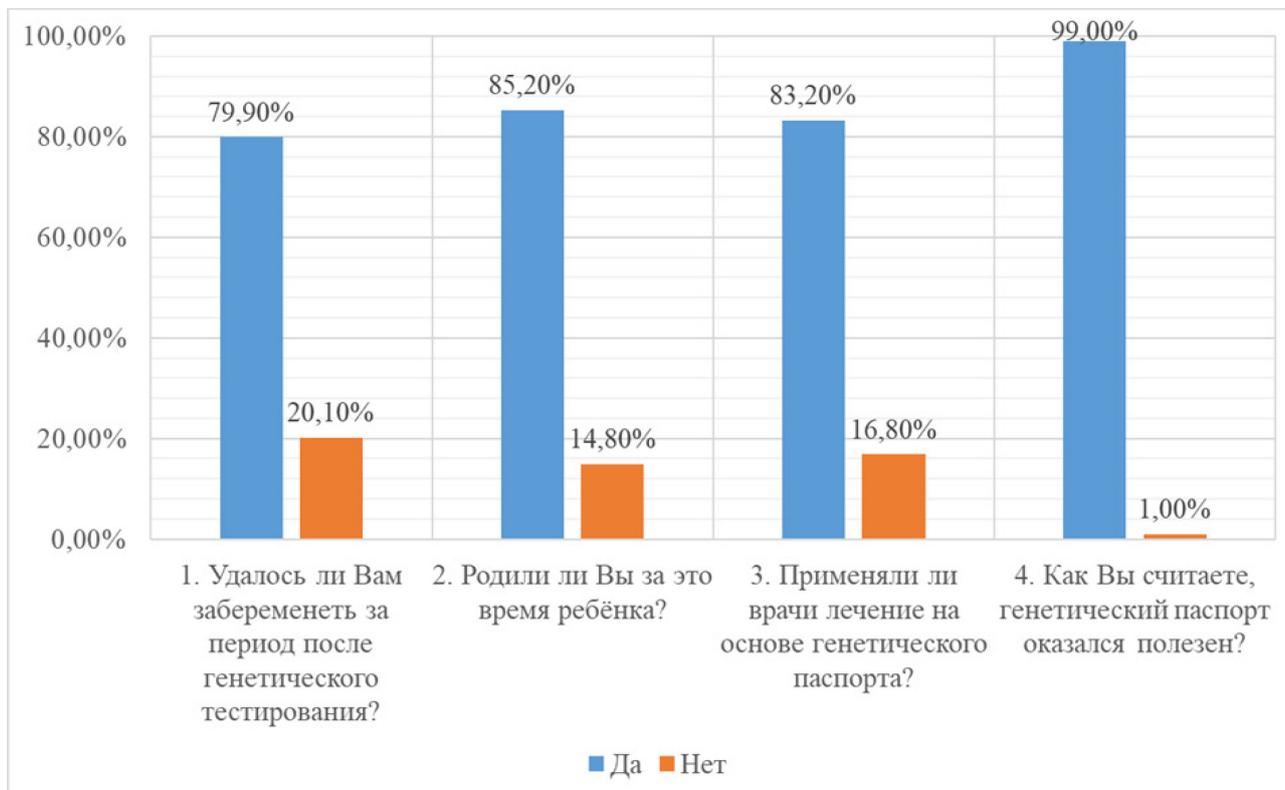


Рисунок 5. – Результаты опроса женщин с привычным невынашиванием беременности, прошедших генетическое тестирование в лаборатории генетики человека Института генетики и цитологии НАН Беларуси

Процент ответов на вопрос №2 и №3 рассчитывался из количества людей, ответивших положительно на предшествующий вопрос. Например, 85,20% положительных ответов на вопрос №2 рассчитывались от количества положительных ответов на вопрос №1 (положительных ответы принимаются за 100%). Доля ответов на вопрос №4 рассчитывалась от общего количества полученных ответов.

Примечательно, что доля родивших женщин (вопрос №2; 85,20% положительных ответов) почти равна доле женщин, которым врачи по результатам генетического тестирования назначили медикаментозную терапию (вопрос №3; 83,20% положительных ответов).

На вопрос №4 99,00% всех опрошенных ответили положительно. посчитали генетический паспорт полезным. Было получено множество благодарственных писем-отзывов, в которых большинство респондентов отметили, что генетическое тестирование было единственным, что помогло им стать мамами.

Таким образом, с помощью проведенного социологического опроса и последующей обработки полученных данных, наглядно продемонстрирована

прикладная значимость молекулярного-генетического тестирования женщин с целью выявления групп риска и последующей корректировкой неблагоприятных эффектов генов, что способствует вынашиванию беременности и благополучным родам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации:

1. Разработана панель генов-кандидатов систем гемостаза, ангиогенеза, регуляции артериального давления и метаболизма фолатов, предрасполагающих к нарушению физиологического процесса беременности [1–4, 7, 8, 13].

2. В выборке из 3598 представителей белорусской популяции определены частоты 31 полиморфного варианта генов, ассоциированных с риском потери беременности. В результате сравнения частот аллельных вариантов генов в генотипах пациенток с невыясненными причинами привычных выкидышей и в контрольной группе выявлены наиболее информативные варианты генов, повышающих риск невынашивания беременности – аллель *C* гена *ITGB3* ($p = 0,02$; $OR = 1,66$), аллельные варианты *G/T + T/T* гена *EPO* ($p = 0,03$; $OR = 1,82$), аллели *E4 + E2* гена *APOE* ($p = 0,02$; $OR = 1,25$) [1–4, 7–10, 11, 13].

3. Установлено, что формирование генетического риска нарушения процесса беременности обусловлено не столько носительством отдельных неблагоприятных факторов, сколько их количеством и взаимодействием. Показано, что количество генетических факторов риска репродуктивных потерь в генотипах женщин с привычными выкидышами существенно выше, чем в генотипах контрольной группы. В контрольной группе преобладают генотипы с количеством факторов риска от 2 до 5, а у женщин с привычным невынашиванием беременности – от 6 до 14 ($p = 0,0002$). Следовательно, чем больше в генотипе аллельных вариантов, ассоциированных с нарушениями течения беременности, тем выше риск невынашивания [1–5, 7–9, 11, 13].

4. Написана на языке программирования R в среде RStudio уникальная компьютерная программа, которая позволяет автоматизировать процесс поиска прогностически значимых комплексов генов риска, выявлять наиболее информативные сочетания генов, что существенно повышает эффективность и корректность оценки риска развития патологии. С ее помощью проанализировано 3 764 376 комплексов генов-кандидатов, и в результате статистического анализа выявлено 11 наиболее информативных комплексов генов риска потерь беременности (OR от 1,75 до 4,46). При этом аллельный вариант *GT* (*eNOS* G894T) присутствует в 5 из 11 выявленных комплексов риска, *CC* (*FXI* T/C) и *ID* (*ACE*) – в 4 комплексах, *ValLeu* (*FXIII*) и *TC* (*ITGB3*) – в 3-х,

что свидетельствует о существенном вкладе этих генных полиморфизмов в нарушение процесса беременности [3, 6, 13, 14].

5. Разработана уникальная технология количественной оценки генетической предрасположенности к невынашиванию беременности, которая учитывает вклад как одиночных аллельных вариантов генов, так и их комплексов в физиологический процесс развития беременности – индивидуальный риск невынашивания беременности можно рассчитывать в процентах по сравнению с контрольной величиной [1–3, 12, 13, 14].

Рекомендации по практическому использованию результатов:

1. Разработанная на основании полученных результатов и утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь Инструкция по применению «Метод определения вероятности невынашивания беременности» (№176-1220 от 29 декабря 2020 г.) [14] рекомендуется для использования в практической деятельности врачами акушерами-гинекологами, врачами-гематологами и другими врачами-специалистами организаций здравоохранения всех технологических уровней оказания акушерско-гинекологической и перинатальной помощи.

2. Разработанная уникальная технология количественной оценки генетической предрасположенности к невынашиванию беременности используется в работе Республиканского Центра геномных биотехнологий Института генетики и цитологии НАН Беларуси (за период с 09.12.2020 по 06.06.2022 разработано 770 генетических паспортов на общую сумму 270 052 рубля, акт о внедрении результатов НИР от 06 июня 2022 г.), в работе Республиканского научно-практического центра «Мать и дитя» Министерства Здравоохранения РБ (акт внедрения от 30.11.2021 г.) и используются в учебном процессе в ГомГМУ по профилям субординатуры (акушерство и гинекология), дисциплина «Внутренние болезни» (акт от 18 апреля 2022 г.), рекомендуется к дальнейшему использованию в учреждениях МЗ РБ акушерско-гинекологического профиля.

Разработанная технология по своим качественным характеристикам превосходит западные аналоги, и может поставляться на экспорт.

Профилактика осложнений и коррекция эффектов выявленных генов риска с помощью соответствующей терапии позволят снизить частоту нарушений беременности, что уменьшит расходы на лечение, повысит рождаемость и улучшит демографическую ситуацию в стране.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Публикации, соответствующие пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь:

1. Роль генетических факторов в предрасположенности к невынашиванию беременности / **Н. Г. Седляр**, А. Л. Гончар, М. Д. Амелянович, И. Б. Моссэ // Сб. науч. тр. / Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. – Минск, 2016. – Т. 20 : Молекулярная и прикладная генетика. – С. 87–95.

2. Comparison of the thrombophilic gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss: results on combined gene effect of *FVLeiden*, *FVR2*, *FXIII*, *MTHFR* (A1298C and C677T), *PAI-1* 4G/5G and *ACE* I/D genes in RPL women from Minsk/Belarus and Canakkale – Sivas/Turkey / F. Silan, I. Mosse, A. Gonchar, **N. Sedlyar**, A. Kilchevsky, O. Vildiz, B. Kuru, O. Ozdemir // *Biomed. Genetics and Genomics*. – 2016. – Vol. 1, iss. 4. – P. 87–93.

3. Оценка риска невынашивания беременности на основе молекулярно-генетического анализа / **Н. Г. Седляр**, И. Б. Моссэ, Л. А. Кундас, А. Л. Гончар, М. Д. Амелянович // Сб. науч. тр. / Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. – Минск, 2020. – Т. 28 : Молекулярная и прикладная генетика. – С. 81–93.

Статьи в других изданиях:

4. Показатели гемостаза доноров с полиморфизмами генов, ассоциированных с невынашиванием беременности / Э. В. Дашкевич, В. В. Веремеева, Н. А. Бухвальд, **Н. Г. Седляр**, О. В. Красько // *Гематология. Трансфузиология. Вост. Европа*. – 2019. – Т. 5, № 2. – С. 168–176.

5. Седляр, Н. Г. Генетические механизмы невынашивания беременности / **Н. Г. Седляр**, И. Б. Моссэ // *Медицина*. – 2019. – Т. 106, № 3. – С. 50–55.

6. Комплексные методы оценки риска и профилактики невынашивания беременности / И. Б. Моссэ, И. В. Курлович, Э. В. Дашкевич, **Н. Г. Седляр**, М. В. Белуга, В. В. Веремеева // *Гематология. Трансфузиология. Вост. Европа*. – 2020. – Т. 6, № 4. – С. 449–456.

Тезисы докладов:

7. Моссэ, И. Б. Молекулярно-генетическая диагностика наследственной тромбофилии как предиктора невынашивания беременности / И. Б. Моссэ, А. Л. Гончар, **Н. Г. Седляр** // *Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы* : материалы II Междунар. науч. конф. к 50-летию ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, 13–16 окт. 2015 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси, Белорус. о-во генетиков и селекционеров ; редкол.: А. В. Кильчевский [и др.]. – Минск, 2015. – С. 234.

8. Выявление факторов риска наследственной тромбофилии в целях профилактики потерь беременности / И. Б. Моссэ, А. Л. Гончар, Л. А. Кундас, М.

Д. Амелянович, **Н. Г. Седляр** // Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы : материалы III Междунар. науч. конф. посвящ. 115-летию со дня рождения академика А. Р. Жебрака, Минск, 23–25 нояб. 2016 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси, Белорус. о-во генетиков и селекционеров ; редкол.: А. В. Кильчевский [и др.]. – Минск, 2016. – С. 62.

9. The thrombophilic gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss dilemma: from Minsk/Belarus and Canakkale – Sivas/Turkish populations / F. Silan, I. Mosse, A. Gonchar, **N. Sedlyar**, A. V. Kilchevsky, B. Kuru, O. Ozdemir // European Biotechnology congress, Riga, 5–7 May 2016 / J. of Biotechnol. – 2016. – Vol. 231, suppl. – P. S20.

10. Identification of the gene complexes that determine some individual characteristics of a person / I. Mosse, A. Kilchevsky, A. Gonchar, M. Ameliyanovich, **N. Sedlyar** // World BioDiscovery Congress, Sofia, 17–19 July 2017 / BioDiscovery. – 2017. – Vol. 20. – Art. № e21998.

11. Седляр, Н. Г. Роль полиморфизмов гена аполипопротеина Е (*APOE*) в этиологии невынашивания беременности / **Н. Г. Седляр**, И. Б. Моссэ, А. Л. Гончар // Международный симпозиум по геномике, приуроченный к Году науки в Республике Беларусь : тез. докл., Минск, 21–23 нояб. 2017 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси, Белорус. о-во генетиков и селекционеров. – Минск, 2017. – С. 166–167.

12. Гемостазиологические и генетические показатели у женщин-доноров в зависимости от семейного и акушерского анамнеза / Э. В. Дашкевич, В. В. Веремеева, Н. А. Бухвальд, **Н. Г. Седляр** // Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Совершенствование технологий управления качеством в организациях переливания крови», Минск, 26 сентября 2019 г. / Гематология. Трансфузиология. Вост. Европа. – 2019. – Т. 5, № 4. – С. 557–558.

13. Количественное определение генетического риска потери беременности / **Н. Г. Седляр**, И. Б. Моссэ, Л. А. Кундас, А. Л. Гончар, М. Д. Амелянович // Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы : материалы IV Междунар. науч. конф. к 55-летию основания Института генетики и цитологии НАН Беларуси, 3–4 нояб. 2020 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси, Белорус. о-во генетиков и селекционеров ; редкол.: А. В. Кильчевский [и др.]. – Минск, 2020. – С. 134.

Методические рекомендации:

14. Метод определения вероятности невынашивания беременности : инструкция : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 29.12.2020 г. / А. В. Кильчевский, И. Б. Моссэ, Э. В. Дашкевич, И. В. Курлович, **Н. Г. Седляр**, М. В. Белуга, В. В. Веремеева. – Минск : [б. и.], 2020. – 15 с.

РЕЗЮМЕ**Седляр Никита Геннадьевич****Оценка риска невынашивания беременности на основе молекулярно-генетического анализа**

Ключевые слова: невынашивание беременности, генетическое тестирование, ПЦР, ангиогенез, регуляция артериального давления, метаболизм фолатов, гемостаз, оценка риска, комплексы генов.

Цель работы: разработать молекулярно-генетическую технологию количественной оценки риска невынашивания беременности.

Методы исследования: полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, статистические методы анализа.

Полученные результаты и их новизна: впервые определены частоты 31 полиморфизма генов-кандидатов риска невынашивания беременности в белорусской популяции. Проведено сравнение частот аллельных вариантов генов в генотипах пациенток с невыясненными причинами привычных выкидышей и в контрольной группе, выявлены 3 наиболее информативных варианта генов, статистически значимо повышающих риск потери беременности (аллель *C* гена *ITGB3*, аллельные варианты *G/T + T/T* гена *EPO*, аллели *E4 + E2* гена *APOE*). Для поиска значимых комплексов генов риска разработана специальная компьютерная программа, с помощью которой проанализировано 3 764 376 комплексов генов, среди которых выявлено 11 наиболее информативных (OR от 1,75 до 4,46). Установлено, что формирование генетического риска нарушения процесса беременности обусловлено не столько носительством отдельных неблагоприятных факторов, сколько их взаимодействием. Разработана технология количественной оценки генетической предрасположенности к невынашиванию беременности.

Рекомендации по использованию: разработана, утверждена Министерством здравоохранения РБ и опубликована Инструкция по применению «Метод определения вероятности невынашивания беременности» (176-1220 от 29 декабря 2020 г.). Результаты диссертационной работы внедрены в работу Республиканского Центра геномных биотехнологий Института генетики и цитологии НАН Беларуси (акт внедрения от 6 июня 2022 г.), ГУ «РНПЦ «Мать и дитя» в отделение экстрагенитальной патологии беременности (акт внедрения от 30 ноября 2021 г.) и в учебный процесс в ГомГМУ (акт внедрения от 18 апреля 2022 г.). Рекомендуются использовать в учреждениях МЗ РБ для проведения профилактических и/или лечебных мер пациенткам с высоким генетическим риском потери беременности, что способствует нормальному протеканию беременности и успешному рождению ребенка.

Область применения: акушерство, гинекология, медицинская генетика.

РЭЗІЮМЭ

Сядляр Мікіта Генадзевіч

Ацэнка рызыкі невыношвання цяжарнасці на аснове малекулярна -
генетычнага аналізу

Ключавыя словы: невыношванне цяжарнасці, генетычнае тэставанне, ПЛР, ангіягенез, рэгуляцыя артэрыяльнага ціску, фалатны цыкл, гемастаз, ацэнка рызыкі, комплексы генаў рызыкі.

Мэта працы: распрацаваць малекулярна-генетычную тэхналогію колькаснай ацэнкі рызыкі невыношвання цяжарнасці.

Метады даследвання: палімеразная ланцуговая рэакцыя ў рэжыме рэальнага часу, статыстычныя метады аналізу.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню вызначаны частоты 31 палімарфізма генаў-кандыдатаў рызыкі невыношвання цяжарнасці ў беларускай папуляцыі. Праведзена параўнанне частот алельных варыянтаў генаў-кандыдатаў у генатыпах пацыентак з невысветленымі прычынамі звыклых выкідышаў і ў кантрольнай групе, выяўлены 3 найбольш інфарматыўныя варыянты генаў, якія статыстычна значна павышаюць рызыку страты цяжарнасці (аллель *C* гена *ITGB3*, аллельныя варыянты *G/T* + *T/T* гена *EPO*, аллелі *E4* + *E2* гена *APOE*). Распрацавана спецыяльная камп'ютарная праграма для пошуку прагнастычна істотных комплексаў генаў рызыкі. Прааналізавана 3 764 376 комплексаў генаў, сярод якіх выяўлена 11 найбольш інфарматыўных (OR ад 1,75 да 4,46). Устаноўлена, што фарміраванне генетычнай рызыкі парушэння працэсу цяжарнасці абумоўлена не столькі носьбіцтвам асобных неспрыяльных фактараў, колькі іх узаемадзеяннем. Распрацавана тэхналогія колькаснай ацэнкі генетычнай схільнасці да невыношвання цяжарнасці.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: распрацавана і зацверджана МЗ РБ інструкцыя па прымяненні «Метад вызначэння верагоднасці невыношвання цяжарнасці» (176-1220 ад 29 снежня 2020 г.), якая выкарыстоўваецца ў працы Рэспубліканскага Цэнтра геномных біятэхналогій Інстытута генетыкі і цыталогіі НАН Беларусі (акт укаранення ад 6 чэрвеня 2022 г.), ў працу дзяржаўнай установы «РНПЦ «Маці і дзіце» у аддзяленне экстрагенітальнай паталогіі цяжарнасці (акт укаранення ад 30 лістапада 2021 г.) і ў навучальны працэс у ГомГМУ (акт укаранення ад 18 красавіка 2022 г.).

Рэкамендуецца выкарыстоўваць ва ўстановах МЗ РБ для правядзення прафілактычных і/ці лекавых мер пацыенткам з высокай генетычнай рызыкай страты цяжарнасці, што спрыяе нармальнаму праходжанню цяжарнасці і паспяховым родам.

Вобласць прымянення: акушэрства, гінекалогія, медыцынская генетыка.

SUMMARY**Sedlyar Nikita Gennadievich****Miscarriage risk assessment based on molecular genetic analysis**

Key words: miscarriage, genetic testing, PCR, angiogenesis, arterial blood pressure regulation, folate metabolism, hemostasis, risk assessment, gene complexes.

Aim of the study: to develop a molecular genetic technology for quantitative miscarriage risk assessment.

Research methods: real time polymerase chain reaction, statistical analysis methods.

Obtained results and their novelty: the frequencies of 31 polymorphisms of candidate genes of miscarriage risk in the Belarusian population were determined for the first time. The frequencies of gene allelic variants in the genotypes of patients with unknown causes of recurrent miscarriages and in the control group were compared. Three the most informative gene variants were identified which statistically significantly increase the risk of miscarriage (allele *C* of the *ITGB3* gene, allelic variants *G/T + T/T* of the *EPO* gene, alleles *E4 + E2* of the *APOE* gene). The special computer program was developed to search for significant gene risk complexes. With this program, 3 764 376 gene complexes were analyzed, among which 11 the most informative ones were found (OR 1,75–4,46). It was found that formation of a genetic risk of pregnancy process disruption is due not so much to the carriage of individual adverse factors as to their interaction. The technology of quantified evaluation of genetic predisposition to miscarriage was developed.

Recommendations of usage: the Instruction for use "The method of miscarriage probability determining" was developed, approved by the Ministry of Health of the Republic of Belarus and published (176-1220 dated December 29, 2020). The results of the dissertation work are implemented at the Republican Centre of Genomic Biotechnology of the Institute of Genetics and Cytology of the NASB of Belarus (act of implementation dated June 6, 2022), at the State Institution "The Republican Scientific and Practical Center "Mother and Child", the department of pregnancy extragenital pathology (act of implementation dated November 30, 2021) and in the educational process of Gomel State Medical University (act of implementation dated April 18, 2022).

The developed technology is recommended to be used in institutions of the Ministry of Health of the Republic of Belarus for preventive and/or therapeutic measures for patients with a high genetic risk of pregnancy loss, which contributes to normal pregnancy course and the successful childbirth.

Application area: obstetrics, gynecology, medical genetics.