НАО «Медицинский Университет Астана»

УДК 618.39-06-097:575.113-071 На правах рукописи

САДЫРБЕКОВА АЙГЕРИМ ТОЛЕГЕНОВНА

Молекулярно-генетическое исследование фетального генома при идиопатическом привычном невынашивании беременности

8D10102 – «Медицина»

Диссертация на соискание ученой степени
доктора философии (PhD)

Научный руководитель:
д.м.н., профессор Святова Г. С.
Зарубежный консультант:
к.м.н., руководитель отдела генетики
МГЦ «Геномед» Канивец И. В.

Республика Казахстан
Астана, 2026

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ …….. 4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ …… 5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ …… 7
ВВЕДЕНИЕ …….. 8
1 **ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ ……** 13
1.1 Основные известные детерминанты привычного невынашивания беременности …… 13
1.2 Вклад генов-кандидатов в привычное невынашивание беременности ……. 21
1.2.1 Роль генов тромбофилии в патогенезе привычного невынашивания беременности ……..... 21
1.2.2 Иммуногенетические механизмы в патогенезе привычного невынашивания ……. 23
1.3 Эволюция молекулярно-генетических тестов при исследовании фетального материала ……. 24
1.3.1 Возможности стандартного кариотипирования в диагностике причин ПНБ ……. 24
1.3.2 Применение FISH в исследовании абортного материала: преимущества и недостатки ……. 25
1.3.3 Использование MLPA в качестве дополнительного инструмента диагностики при невынашивании …….. 26
1.3.4 Особенности применения хромосомного микроматричного анализа в качестве самостоятельного метода диганостики …….. 27
1.4 Платформы и аналитические программы хромосомного микроматричного анализа ……... 31
1.5 Идиопатическое привычное невынашивание беременности: современное понимание ……. 33
2 **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ……** 37
2.1 Материалы …… 37
2.2 Методы исследования ……. 40
2.3 Этические аспекты ……... 46
2.4 Уязвимая группа ……... 47
2.5 Хранение данных ……. 47
2.6 Плата за участие ……... 47
3 **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ……..** 48
3.1 Клинико-анамнестические характеристики женщин с иПНБ …… 48
3.2 Клинико-лабораторные показатели женщин с ПНБ ……. 52
3.3 Результаты исследования абортного материала женщин с иПНБ методом хромосомного микроматричного анализа aCGH ……... 55
3.3.1 Анализ выявленных трисомий в структуре хромосомных нарушений …… 60
3.3.2 Влияние моносомий на раннее развитие эмбриона ……..... 64

3.3.3 Роль делеций в патогенезе невынашивания беременности ..……. 67
3.3.4 Дупликация Xp11.22-11.23 как редкий вариант несбалансированной перестройки фетального материала ..…….. 78
3.3.5 Комбинированная аномалия в структуре CNV абортного материала ..……... 79
3.4 Сравнительный клинико-анамнестический анализ с учетом выявленных патологий ..…… 80
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ..……. 82
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ..…… 86
ПРИЛОЖЕНИЕ А – Монография…… 106
ПРИЛОЖЕНИЕ Б – Свидительство об авторском праве..... 107
ПРИЛОЖЕНИЕ В – Акт внедрения 108
ПРИЛОЖЕНИЕ Г – Заключение Локальной комиссии по биоэтике ….. 111
ПРИЛОЖЕНИЕ Д – Алгоритм диагностики фетального материала при иПНБ …… 113

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

Кодекс Республики Республики Казахстан от 07 июля 2020 года № 360-VI «О здоровье народа и системе здравоохранения» (с изменениями и дополнениями по состоянию на 16.09.2025 г.);

Приказ Министра Здравоохранения Республики Казахстан от 26 мая 2023 года № 89. О внесении изменений в Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 11 декабря 2020 года № ҚР 248-2020 «Об утверждении правил проведения клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий, клинико-лабораторных испытаний медицинских изделий для диагностики вне живого организма (in vitro) и требования к клиническим базам и оказания государственной услуги. Выдача разрешения на проведение клинического исследования и (или) испытания фармакологических и лекарственных средств, медицинских изделий»;

Закон Республики Казахстан от 21 мая 2013 года № 94-V «О персональных данных и их защите» (с изменениями и дополнениями по состоянию на 16.09.2025 г.)

Хельсинская декларация Всемирной Медицинской Ассоциации «Этические принципы проведения Медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта» WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Invoving Human Participants. Adopted by the 75 WMA General Assembly, Helsinki, Finland, October 2024.

ГОСТ 7.32-2001. Межгосударственный стандарт. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 15.101-98. Межгосударственный стандарт. Система разработки и постановки продукции на производство. Порядок выполнения научно-исследовательских работ.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:

Аллели – это различные формы одного и того же гена, которые определяют альтернативные варианты одного и того же признака и расположены на одинаковых участках (локусах) гомологичных хромосом.

Выборка – это часть популяции, полученная путем отбора.

Генетический маркер или молекулярно-генетические маркеры – это полиморфный признак, наследование которого можно проследить методами молекулярной биологии на уровне нуклеотидной последовательности ДНК для определенного гена или любого другого участка хромосомы.

Генетический полиморфизм – разнообразие частот аллелей гомозигот, которые заключаются в незначительных вариациях “генетического кода” одного и того же гена.

Генотип – это наследственная основа организма, совокупность всех его генов, всех наследственных факторов организма.

Генотипирование – процесс определения генотипа.

Гетерозиготный генотип – два разных аллеля данного гена.

Гомозиготный генотип – два идентичных аллеля данного гена.

Вариация числа копийности (англ. Copy number variation, CNV) – вид генетического полиморфизма, к которому относят различия индивидуальных геномов по числу копий хромосомных сегментов размером от 1 тыс. до нескольких млн. пар оснований.

Доверительный интервал (ДИ) – статистически значимый показатель, позволяющий определить диапазон истинных значений, где 95% ДИ показывает истинное значение параметра в популяции с вероятностью 95% лежит в его пределах.

Достоверность – характеристика, которая показывает, в какой мере полученные результаты измерения соответствуют истинной величине в отношении этой выборки.

Локус – местоположение определенного гена в генетической или цитологической карте хромосомы.

Мутация – стойкое, внезапно возникшее изменение структуры наследственного материала на различных уровнях его организации, приводящее к изменению тех или иных признаков организма.

Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП, англ. Single nucleotide polimorphism, SNP) – разная последовательность ДНК между гомологичными участками гомологичных хромосом или в геноме представителей одного вида в пределах одного нуклеотида (A, T, G или C).

Отношение шансов (ОШ, англ. OR, odds ratio) – статистический показатель, позволяющий сравнить частоту воздействия факторов риска в эпидемиологических исследованиях. Отношение шансов является ретроспективным сравнением влияния данного фактора риска на две группы лиц.

Полиморфизм – не меняющийся в течение жизни, наследуемый генетический вариант.

Популяция – совокупность организмов одного вида, длительно обитающих на одной территории.

Статистическая значимость – мера, которая позволяет оценить вероятность наблюдаемой между зависимыми и независимыми переменными справедливости нулевой гипотезы.

Фактор риска – обстоятельство, внешнее или внутреннее, отрицательно влияющее на здоровье человека и создающее благоприятную среду для возникновения и развития болезни.

Хромосома – структура, основу которой составляет конденсированная молекула ДНК, носитель генетической информации.

Хромосомный микроматричный анализ (ХМА, aCGH) – вид генетической диагностики хромосомных аномалий, при котором определяются структурные изменения количества генетического материала, ДНК, в хромосомах, например, делеции и дупликации участка хромосомы.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

НЦАГиП	–	Научный Центр акушерства, гинекологии и перинаталогии
ЦММ	–	Центр Молекулярной Медицины
иПНБ	–	Идиопатическая форма привычного невынашивания беременности
ПНБ	–	привычное невынашивание беременности
aCGH	–	метод сравнительной геномной гибридизации на микроматрицах
ASRM	–	Американское общество репродуктивной медицины
ESHRE	–	Европейское общество репродукции человека и эмбриологии
OR	–	Отношение шансов
CNV	–	вариация числа копийности
MTR	–	5-метилтетрагидрофолат-гомоцистеин S-трасфераза
MTHFR	–	метилентетрагидрофолатредуктаза
MTRR	–	метионин-синтаза-редуктаза
F5	–	свертывающий фактор V (фактор Лейдена)
F2	–	свертывающий фактор II
AGTR1	–	рецептор к ангиотензину II 1-го типа
FGB	–	бета-полипептидная цепь фибриногена
eNOS	–	эндотелиальная синтаза оксида азота
PLANH1	–	эндотелиальный ингибитор активатора плазминогена-1
ITGB3	–	интегрин бета-3
ACE	–	ангиотензинпревращающий фермент
НЦАГиП	–	Научный Центр акушерства, гинекологии и перинаталогии
ЦММ	–	Центр Молекулярной Медицины

ВВЕДЕНИЕ

Охрана здоровья матери и ребенка относится к приоритетным направлениям Концепции развития здравоохранения Республики Казахстан на 2022-2029 годы [1]. Привычное невынашивание беременности (ПНБ) затрагивает до 3% женщин репродуктивного возраста [2-4]. К известным причинам ПНБ относятся хромосомные патологии эмбриона, носительство сбалансированных транслокаций у родителей, анатомические аномалии матки, иммунологические факторы, тромбофилии, инфекции и эндокринные заболевания [5-7]. Согласно рекомендациям Американского общества репродуктивной медицины (ASRM), привычное невынашивание характеризуется двумя и более потерями клинически подтвержденных беременностей [8]. Для установления причин потерь исследуются генетические, анатомические, эндокринные и другие факторы привычных потерь беременности [9, 10].

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные данной проблеме, практически до половины причин ПНБ остаются неизвестными [9, 11]. Такие случаи обозначены в клинической практике относят к идиопатическим. Примерно 65% причин привычных потерь беременности обусловлены генетической патологией в фетальном материале [12, 13]. Для исключения хромосомных аномалий Королевский колледж акушеров и гинекологов (RCOG) предлагает цитогенетическое исследование абортного материала. В то же время, Европейское общество репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) для генетического тестирования абортусов рекомендует хромосомным микроматричный анализ (ХМА) методом сравнительной геномной гибридизации (aCGH) [7, 9]. Установление хромосомной патологии абортного материала имеет значение для уточнения причин ПНБ, а также определяет показания к дальнейшему обследованию супружеской пары [14].

Возможности выявления патологии фетального генома зависят от разрешающей способности метода диагностики. Стандартное кариотипирование выявляет числовые аномалии и крупные структурные перестройки размером более 5-10 Мб [15]. Применение aCGH позволяет выявить вариации числа копийности (CNV) малого размера без культивирования клеток. Согласно метаанализа Dhillon et al. aCGH позволяет дополнительно выявить 13% хромосомных аномалий (95% ДИ 8-21%) [16]. Reddy и соавт. показали эффективность ХМА за счет выявления патогенных микроделеций и дупликаций в 9 случаях (2,6%) с нормальным кариотипом [15]. Кроме того, Ozawa и соавт. показали, что одним из преимуществ метода является проверка контаминации материнскими клетками [17]. Однако, известным ограничением ХМА является невозможность определения сбалансированных транслокаций и ограничения в диагностике низкоуровневого мозаицизма [7, 9].

Несмотря на многочисленные исследования генетических причин ПНБ, применение ХМА при идиопатической форме остается малоизученным. Анализ

фетального генома затрудняют сложности получения материала, аутолиз тканей и материнская контаминация [12, 17].

В настоящую работу включены 100 образцов абортусов от женщин с иПНБ, что является наиболее большой выборкой. Выявление хромосомных нарушений в фетальном материале позволяет уточнить их причины и пересмотреть диагноз иПНБ. На основе полученных результатов основана разработка клинико-диагностического алгоритма. Последовательное обследование супружеской пары позволяет определить дальнейшую тактику ведения при планировании беременности.

Цель исследования

Повысить эффективность диагностики причин идиопатического привычного невынашивания беременности методом хромосомного микроматричного анализа фетального материала.

Задачи исследования

1. Определить вклад хромосомных анеуплоидий в этиопатогенез идиопатического привычного невынашивания беременности при исследовании абортного материала методом флуоресцентной гибридизации in situ (FISH).
2. Оценить техническую осуществимость и диагностическую значимость хромосомного микроматричного анализа фетального материала для определения микроделеций и микродупликаций при иПНБ.
3. Определить частоту анеуплоидий и микрохромосомных нарушений в абортном материале при идиопатическом невынашивании беременности и сопоставить клинико-анамнестические характеристики женщин с учетом результатов ХМА абортусов.
4. Разработать и обосновать алгоритм диагностики числовых аномалий хромосом и субмикроскопических аномалий методом хромосомного микроматричного анализа при привычном невынашивании беременности.

Объект исследования

В исследование включено 100 абортных материалов женщин с идиопатической формой привычного невынашивания беременности.

Предмет исследования

Молекулярно-генетические характеристики генома фетального материала женщин с идиопатической формой привычного невынашивания беременности.

Научная новизна

1. Впервые выполнено исследование фетального генома с использованием хромосомного микроматричного анализа у пациенток с идиопатическом формой привычного невынашивания, что позволило расширить представления о вкладе хромосомных аномалий и CNV в этиопатогенез иПНБ;
2. Определена частота летальных анеуплоидий абортного материала у группы пациенток с клиническим диагнозом иПНБ, что дало возможность переклассифицировать 6% случаев потерь беременности как хромосомно обусловленные;
3. Впервые определен спектр субмикроскопических аномалий хромосом и показан генетический вклад CNV с анализом вовлеченных генов-кандидатов

в этиопатогенез иПНБ, что подтверждает диагностическую ценность ХМА в исследовании абортного материала;

4. На основании полученных данных обоснована целесообразность применения aCGH в алгоритме молекулярно-генетического исследования абортного материала при иПНБ.

Практическая значимость полученных результатов

Исследование позволяет обосновать применение ХМА фетального материала для уточнения хромосомных причин при ПНБ. Установление хромосомной причины привычных потерь позволяет определить показания к дальнейшему обследованию супружеских пар и обосновать рекомендации по планированию последующей беременности.

По результатам проведенного исследования разработан клинико-диагностический алгоритм супружеских пар с ПНБ. Алгоритм предусматривает медико-генетическое консультирование с последующим ХМА абортного материала. При выявлении хромосомной патологии в фетальном материале рекомендуется кариотипирование супружеской пары. В случае обнаружения сбалансированной перестройки у родителей предлагается ПГТ-SR и пренатальная диагностика при последующей беременности. При отсутствии патогенных CNV и анеуплоидий рекомендуется последующий поиск причин привычного невынашивания.

Полученные данные используются для разработки персонифицированной программы прегравидарной подготовки и периконцепционной профилактики.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Метод FISH при исследовании абортного материала в условиях выраженной фрагментации и аутолиза тканей демонстрирует ограниченную информативность, что подтверждает необходимость перехода к более чувствительным методам диагностики хромосомных нарушений абортного материала.

2. Хромосомный микроматричный анализ технически осуществим и позволяет обосновать применение в качестве теста первой линии абортного материала у женщин с ПНБ. ХМА демонстрирует 100% чувствительность для аномалий размером от 0,26 Мб и более. Преимуществами метода являются отсутствие необходимости культивирования клеток и выявление субмикроскопических аномалий хромосом. Диагностическая значимость метода составила 18%.

3. Впервые проведенное aCGH фетального материала у пациенток с иПНБ позволило выявить 6% числовых анеуплоидий. Дополнительно установлено 12% CNV, что позволило исключить диагноз привычное невынашивание неизвестного генеза. В структуре микрохромосомных нарушений при иПНБ преобладают делеции (55,5%), тогда как дупликации (5,6%) и сочетанные перестройки (5,6%) встречались реже. Выявленные патогенные CNV включают гены, приводящие к нарушению имплантации, формированию плаценты и развития эмбриона.

4. Разработанный алгоритм молекулярно-генетического обследования при ПНБ включает последовательные этапы предтестового консультирования,

aCGH анализа абортного материала, интепретации результатов и обследования родителей. Алгоритм обеспечивает повышение точности диагностики и формирование персональных рекомендаций с последующей прегравидарной подготовкой и периконцепционной профилактикой фолатами.

Апробация работы. Диссертационная работа апробирована на расширенном заседании кафедры «Общественного здоровья и гигиены» НАО «Медицинский Университет Астана», протокол № 8 от 10 апреля 2026 года.

Результаты работы представлены на:

1) Республиканской конференции «Геномные технологии диагностики и лечения орфанных заболеваний» в г. Алматы 15-16 июня 2023 г.

2) Региональной школе Ассоциации медицинских генетиков в г. Туркестан, 2024 год.

3) Республиканской конференции «Геномные и генетические технологии в клинической практике», г. Алматы, 5-6 июня 2026 г.

Публикации по теме диссертации

1. Основные результаты исследования опубликованы в международном научном издании The International Journal of Gynecology&Obstetrics – статья “Molecular cytogenetic study of the fetal genome in idiopathic recurrent pregnancy loss” (https://doi.org/10.1002/ijgo.16163), 81 процентиль [18].

2. Обзор литературы в журнале 60 процентиля Polski Mercuriusz Lekaski Polish Medical Journal на тему “Study of abortion material in idiopathic habitual miscarriage of pregnancy: Literature review” (10.36740/Merkur202503117) [19].

3. Статья в журнале Science & Healthcare “Population characteristics of genes associated With idiopathic recurrent miscarriage In the kazakh population”, 2023 (Vol. 25) 3.

4. Опубликована монография «Генетика идиопатической формы невынашивания беременности: Генетические предикторы идиопатической формы привычного невынашивания беременности в казахской популяции» (ISBN-13: 978-6207451531), где представлена глава, основанная на результатах исследования (Приложение А) [20].

Внедрение результатов исследования в практику здравоохранения

Получено авторское свидетельство, зарегистрированное Национальным Институтом интеллектуальной собственности МЮ РК (Приложение Б). Результаты данного исследования и алгоритм диагностики пациентов с иПНБ внедрены в практическую работу врачей генетиков ТОО «Центр Молекулярной Медицины» (Приложение В).

Личный вклад автора Автором самостоятельно выполнил информационно-аналитический обзор зарубежной и отечественной литературы по проблеме идиопатического привычного невынашивания беременности, а также осуществил поиск и анализ 197 источников литературы.

Автор самостоятельно провел выделение и измерение концентрации ДНК из ворсин хориона 100 абортного материала, выполнил все этапы хромосомного микроматричного анализа, в том числе мечение образцов, очистку, промывку и гибридизацию.

Самостоятельно статистическая обработка и анализ результатов исследования. Лично автором проведена систематизация и классификация всех выявленных CNV по степени клинической значимости (патогенные, вероятно патогенные, варианты с неизвестной клинической значимостью, вероятно доброкачественные и доброкачественные. При биоинформатической интерпретации CNV автором учитывались размеры перестройки, тип (делеция/дупликация), локализация, расположение генов в пределах перестройки, а также перекрытие с областью известных синдромов. Самостоятельно выполнена аннотация генов с использованием баз данных OMIM, ClinGen, DECIPHER, GnomAD Structural Variants.

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 113 страницах и состоит из введения; обзора литературы современного состояния проблемы; материалов и методов исследования; результатов, содержащих три раздела из собственных исследований; заключения с формированием выводов и практической значимости; списка использованных источников, включающих 197 источника: 189 источника на английском и 8 на русском языках. Текст диссертации иллюстрирован 11 таблицами и 30 рисунками.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Основные известные детерминанты привычного невынашивания беременности

Традиционно Всемирная организация здравоохранения определяет привычное невынашивание беременности (ПНБ) как три и более потери беременности. Такого же подхода придерживается и Королевский колледж акушеров и гинекологов (RCOG) [5-7]. В то же время, Американское общество репродуктивной Медицины (ASRM), Европейское общество репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) и Канадское общество фертильности и андрологии (CFAS) считают, что данный диагноз должен выставляться уже при двух случаях спонтанных выкидышей [8-10]. Несмотря на различие определений, общей целью является своевременное выявление и лечение этой проблемы у женщин с ПНБ. По данным обзоров, риск повторной потери после 2 случаев составляет 29%, а после трех до 36% [5].

В обзоре Turesheva и соавт. проанализированы современные данные о распространенности и причинах привычного невынашивания беременности. После изучения 4354 источников, в обзор вошли 212 публикаций. Авторы указали, что частота ПНБ в разных источниках составляет от 1 до 5% и зависит от ряда условий. Клинически установленная беременность заканчивается самопроизвольным абортом примерно в 10-15% случаев. При учете очень ранних потерь доля может достигать 30%. Различия между опубликованными показателями связаны с условием включения только биохимических беременностей и соблюдения последовательности потерь [5].

Согласно руководства RCOG 2023 года потери не обязательно должны происходить последовательно. Также не требуется, чтобы все беременности были от одного и того же партнера. Документ охватывает повторные потери в первом триместре и случаи одной или нескольких потерь беременности во втором триместре [7].

В обновленном руководстве ESHRE в определение ПНБ не включаются внематочная и молярная беременность. По данным авторов руководства ПНБ встречается примерно у 1-2% пар. Обновление основано на поиске научных работ, опубликованных с марта 2017 по февраль 2022 годов и включает 77 положений по диагностике и ведению ПНБ [9].

В заключении ASRM содержатся рекомендации о проведении комплексного обследования пар с привычным невынашиванием. Данное руководство включает диагностику анатомических аномалий матки, антифосфолипидного синдрома (АФС), эндокринных болезней, нарушений лютеиновой фазы, инфекций, а также кариотипирование супругов [8]. В то же время, ESHRE не рекомендует цитогенетическое исследование родителей в стандартном обследовании, за исключением «стандартной оценки риска» [9]. Это различие в подходах подчеркивает важность индивидуальной оценки каждой пары с ПНБ и разработки рекомендаций к конкретным клиническим случаям, учитывая последние научные данные и практический опыт в области репродуктивной медицины.

Vomstein et al. сравнили определения ПНБ четырех международных документов. В руководстве ESHRE учитывали 2 потери беременности, а в рекомендациях ASRM – 2 клинические потери, подтвержденные ультразвуковых или гистологическим исследованием. В документах обществ акушеров и гинекологов Германии, Австрии и Швейцарии (DGGG, OEGG, SGGG), а также RCOG используется критерий 3 последовательных выкидышей. Определение Всемирной Организации Здравоохранения включало 3 и более последовательных выкидыша до 20-й недели. В результате обзора показано обзора, что хотя бы один случай самопроизвольного аборта происходит примерно у 30% женщин. Повторные выкидыши встречаются у 1-3% женщин, в зависимости от используемого определения [6].

Chester и соавторы также описали различия между понятиями беременности, используемыми в документах RCOG, ASRM и ESHRE. В традиционном британском определении ПНБ означало 3 и более последовательные потери до 24 недель, а распространенность такого состояния составляла 1-3% среди супружеских пар. ASRM учитывала только клиническую беременность, подтвержденными ультразвуковым исследованием либо гистологически, тогда как RCOG учитывала беременность с момента зачатия и тем самым включало биохимические беременности. Определение ESHRE включало беременность, подтвержденную определением хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) в крови или моче, но исключало внематочную и молярную беременности [4].

Профильный комитет ASRM в заключении 2013 года разграничил определения бесплодия и привычной потери беременности. Беременность в документах ASRM рекомендовано подтверждать УЗИ или гистологическим исследованием ткани. Биохимическая беременность, зарегистрированная только по повышению ХГЧ без клинического подтверждения в это определение не входит [8].

Привычное невынашивание беременности представляет собой гетерогенное состояние, причины которого условно можно поделить на негенетические и генетические. К негенетическим относятся анатомические аномалии матки, эндокринные причины, иммунологические механизмы, тромбофилия и инфекции [8, 21-23].

В проспективном когортном исследовании Ali и соавт. обследованы 280 женщин с повторными потерями: У 196 участниц в анамнезе было 2 случая, а 84 имели 3 и более потерь беременности. Причины установлены у 60% участниц, а 40% случаев отнесены к идиопатическим. Эндокринные нарушения выявлены у 38,9% участниц и были наиболее частой установленной группой факторов. Доля идиопатических случаев при 2 и более потерях составила 34,7%, а среди женщин с 3 и более выкидышами – 50%. Анатомические патологии матки выявлены у 5 и 7% женщин соответственно [24].

Yang et al. сформировали проспективную динамическую группу из 1050 небеременных женщин с ПНБ в анамнезе с сентября 2019 года по декабрь 2022 года. К декабрю 2023 года исход следующей беременности был известен у 605 женщин. Из них 454 вошли в обучающую, а 151 – в проверочную выборку. До

беременности были изучено 63 демографических, анамнестических и лабораторных показателя. Повторная ранняя потеря произошла у 140 из 605 женщин (23,14%). В многофакторной модели с повторной ранее потерей были независимо связаны возраст, индекс массы тела, число предыдущих потерь, предшествующий медикаментозный аборт, уровни IgM и гомоцистеина, наличие антикардиолипиновых антител, отношение липопротеинов низкой плотности к липопротеинам высокой плотности и отношение числа тромбоцитов к числу нейтрофилов. Площадь под ROC-кривой девятифакторной модели в контрольной выборке составила 0,781 (95% ДИ 0,702 – 0,843) [2].

К анатомическим аномалиям относятся как врожденные, так и приобретенные патологии [8]. Их частота зависит от используемых диагностических подходов. К врожденным порокам относятся перегородки матки, дугообразная, двурогая, однорогая матка и удвоение матки. Приобретенные аномалии включают внутриматочные спайки, лейомиому и аденомиоз.

Согласно исследованию Cao и соавт. анатомические нарушения выявляются приблизительно у 16% женщин с ПНБ. Эти изменения затрагивают форму или структуру полости матки и составляют отдельную группу причин наряду с эндокринными, иммунными и генетическими факторами [3].

В обзоре Turesheva и соавт. распространенность структурных аномалий матки у женщин с ПНБ приведена в диапазоне 7-28%, тогда как в общей популяции женщин она составляет около 4-7%. Наиболее частыми врожденными аномалиями являются перегородка матки, дугообразная и двурогая матка. Приобретенные изменения включают субмукозные миомы, внутриматочные синехии и полипы эндометрия. Различия между исследования авторы связывают с методами визуализации и критериями классификации аномалий [5].

Наряду с анатомическими аномалиями, значительную долю негенетических причин занимают иммунологические факторы. При нормальном течении беременности иммунная система строго регулируется для предотвращения отторжения плода. Кроме того, она защищает беременную и плод от патогенов. При нарушениях регуляторных процессов повышается вероятность возникновения патологических иммунных реакций, способных препятствовать имплантации и нарушать раннюю плацентацию [21].

Наиболее изученным состоянием при ПНБ является антифосфолипидный синдром. Антифосфолипидные антитела связываются с компонентами мембран тромбоцитов и эндотелиальных клеток. Это приводит к их активации, снижению естественных антикоагулянтных механизмов и ослаблению фибринолиза. В результате формируются микротромбозы и сосудистый спазм в маточно-плацентарном кровотоке. Другими немаловажными факторами считаются аутоиммунные заболевания, при которых патологическая активность иммунной системы создает неблагоприятные условия для нормального течения беременности. Эти изменения нарушают естественные механизмы иммунной толерантности, что может способствовать ПНБ [21].

Laijawala et al. обобщили данные об иммунологических механизмах повторных потерь и указали, что аутоиммунные факторы выявляются приблизительно в 20% случаев ПНБ. К описанным изменениям относятся нарушения соотношения иммунных клеток, продукции цитокинов и механизма материнской иммунной толерантности к эмбриону. В одном из включенных исследований у 29 женщин с ПНБ по сравнению с 27 женщинами контрольной группы была зарегистрирована более высокая продукция интреферона-γ и фактора некроза опухоли-α. В другом исследовании, включавшим 21 женщину с ПНБ и 20 женщин контроля, в крови и тканях были повышены уровни интерлейкинов 12 и 18 и интерферона-γ. В обзоре метаанализа с участием 5038 женщин антинуклеарные антитела выявлялись у 22% женщин с ПНБ и 8,3 % женщин контрольных групп [25].

Наиболее значимыми эндокринными нарушениями считаются дисфункция щитовидной железы, сахарные диабет, синдром поликистозных яичников, гиперпролактинемия и недостаточность лютеиновой фазы. Эти состояния могут приводить к нарушению овуляции. Кроме того, они способствуют изменениям эндометрия и снижению гормональной поддержки ранней беременности. Такие патологии также приводят к нарушению имплантации и развития эмбриона [22]. Учитывая их распространенность и клиническую значимость, исключение эндокринных факторов является обязательным у женщин с ПНБ.

В обзоре Cao et al. эндокринные нарушения выявляются примерно у 8-12% женщин с повторными потерями беременности. В эту группу включены дисфункция щитовидной железы, гиперпролактинемия, недостаточность лютеиновой фазы и синдром поликистозных яичников. Авторы также рассматривают нарушения углеводного обмена как часть эндокринного профиля женщины с ПНБ. Каждый из перечисленных факторов описан как отдельное состояние с собственными гормональными и метаболическими изменениями [3].

В австралазийском руководстве манифестный гипотиреоз определяется как повышение тиреотропного гормона одновременно со снижением свободного тироксина. Его частота среди беременных составляет около 0,5%. В документе приведены данные, согласно которым при нелеченном гипотиреозе риск потери беременности приблизительно вдвое выше, а в одном крупном когортном исследовании потери зарегистрированы у 6,1% женщин с гипотиреозом и 3,6% женщин без него. Субклинический гипотиреоз характеризуется повышенным тиреотропным гормоном при нормальном уровне свободного тирокисина и встречается у 1,5 – 4% беременных в общей популляции. В одной из приведенных когорт женщин с ПНБ субклинический гипотиреоз выявлен примерно у 19% участниц. Манифестный гипертиреоз встречается у 0,1 – 0,4% беременных, причем около85% таких случаев связаны с болезнью Грейвса [21].

Тромбофилии относятся к категории причин, связанных с нарушением гемостаза и формированием маточно-плацентарного кровотока. Наследственные тромбофилии связаны с изменением активности факторов

свертывания и повышенным риском тромбоза. Такие патологии могут приводить к нарушению кровоснабжения плаценты. Это создает неблагоприятные условия для развития эмбриона и повышает риск ранних потерь беременности [23, 26].

В когортном исследовании Shehata et al. После исключения повторных и неполных записей были проанализированы данные 115 женщин, перенесших не менее 3 последовательных ранних выкидышей. Тромбофилия любого типа выявлена у 106 участниц, что составило 9,2% выборки. Наследственные формы обнаружены у 94 женщин (8,1%), а приобретенная тромбофилия у 12 (1%) женщин. Гетерозиготный фактор V (Leiden) выявлен у 55 (4,8%) женщин, а гетрозиготный вариант протромбина G20210A у 34 (2,9%) женщин. Частота фактора V Leiden в этой когорте статистически не отличалась ни от объединенных данных других исследований ПНБ, ни от показателя контрольных групп, приведенных в систематическом обзоре авторов [26].

Liu и соавторы выполнили систематический обзор (Рисунок 1) и метаанализ 89 наблюдательных исследований, включавших в общей сложности 30254 участницы. Носительство варианта фактора V было связанос ПНБ с отношением шансов 2,44 и 95% ДИ 1,96-3,03 [27].

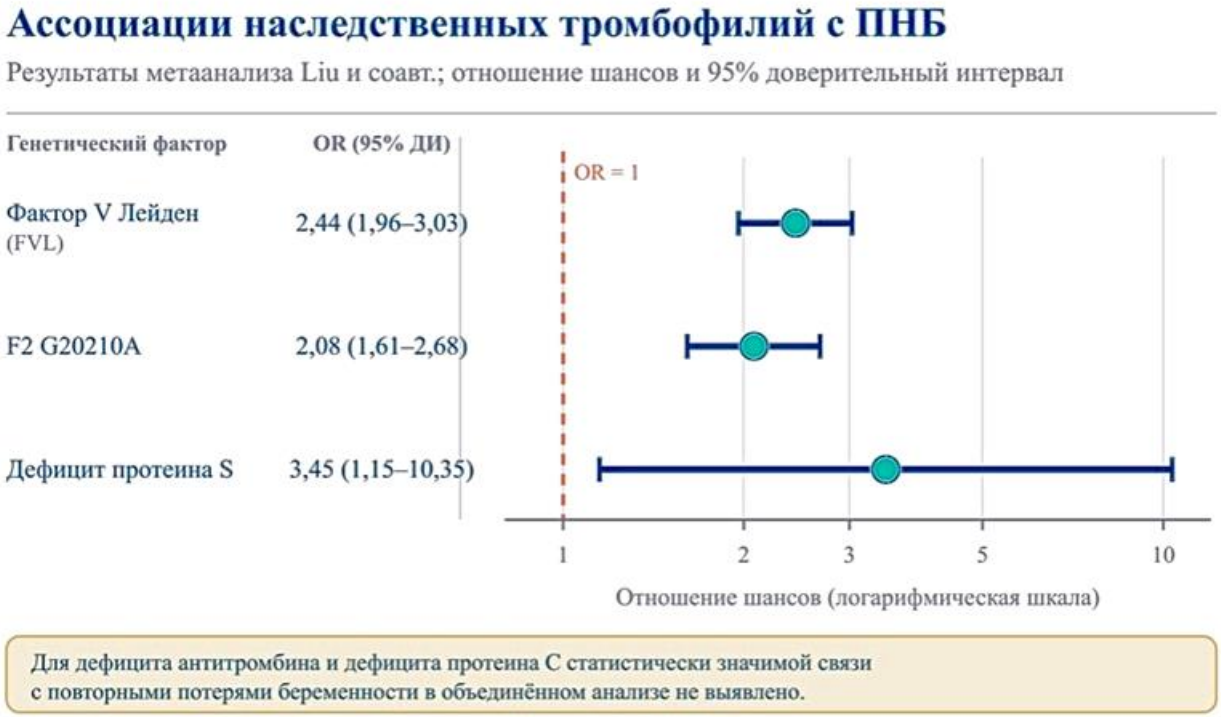


Рисунок 1 – Ассоциации наследственных тромбофилий с привычным невынашиванием беременности

Для варианта фактора FII отношение шансов составило 2,08 при 95% доверительном интервале 1,61-2,68, а для дефицита протеина S – 3,45 (ДИ 1,15-10,35). При исследовании роли антитромбина и дефицита протеина С в

развитии ПНБ статистически значимой с повторными потерями беременности в объединенном анализе не выявлено [27].

Роль инфекций менее выражена, однако они способны изменять функциональное состояние эндометрия. В норме эндометрий должен обеспечивать стерильность и рецептивность для имплантации, в то же время при наличии инфекции эти свойства могут нарушаться. Наибольшее внимание в патогенезе невынашивания беременности уделяется Mycoplasma hominis, Ureaplasma ureaticum, вирусу простого герпеса, которые способны вызывать хроническое воспаление эндометрия [21]. Хотя их вклад в структуру причин ПНБ является небольшим, исключение инфекций является обязательной частью обследования.

Основные причины привычного невынашивания продемонстрированы в Таблице 1.

Таблица 1 – Основные детерминанты привычного невынашивания беременности

Группа этиологических факторов	Доля группы в структуре причин ПНБ	Краткая характеристика
Группа этиологических факторов	Доля группы в структуре причин ПНБ	Краткая характеристика
Анатомические аномалии	1,8-37,6% (в среднем 12,6%)	Структурные нарушения со стороны женской репродуктивной системы (пороки развития матки, полипы, миомы и др.) препятствуют развитию беременности как в процессе имплантации, так и в ходе ее развития [8].
Патологии эндокринной системы матери	39%	Нарушение эндокринной регуляции как на уровне половых гормонов, так и гормонов щитовидной железы, пролактина и пр. Способны индуцировать нарушения беременности [22].
Иммунологические факторы	10-20%	Патологии иммунной системы матери: АФС, системная красная волчанка и др. Способны инициировать отторжение плода в первом триместре беременности [21, 25].
Наследственные тромбофилии	~9%	Наследственные тромбофилии (мутации в генах фолатного метаболизма, гены свертывающей системы, гены тромбоцитарной системы и др.) способны вызывать гиперкоагуляцию,

Продолжение таблицы 1

Группа этиологических факторов	Доля группы в структуре причин ПНБ	Краткая характеристика
		приводящую к нарушению функции плаценты с артериальным или венозным тромбозом в системе мать-плод [26].
Инфекции	0,5-5%	По данным ВОЗ бактериальные инфекции (сифилис, гонорея, хламидиоз и др.); вирусы (гепатиты В и С, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, корь и пр.); паразитарные (трихомониаз, токсопламоз, малярия) способны как вызывать первичное инфицирование эмбриона, так и проводить к хроническому воспалению эндометрия) [21].
Генетические мутации родителей	2-5%	Включают количественные и структурные изменения со стороны хромосомного аппарата родителей [23].
Генетические мутации эмбриона	50-60%	Хромосомные аномалии: летальные анеуплоидии и субмикроскопические перестройки, приводящие к нарушению формирования плаценты и имплантации [28].
Причины неизвестны	50%	Идиопатическое ПНБ, при котором не удается установить известные причины после обследования [24, 27].

Значение хромосомных аномалий в контексте ПНБ является комплексным вопросом. Оно требует исследования как родителей, так и молекулярно-генетического тестирования фетального материала. При изучении генетического профиля родителей отмечается, что в парах с привычным невынашиванием чаще выявляются хромосомные нарушения. Наиболее распространенными являются структурные поломки, в том числе сбалансированные транслокации и инверсии [29]. В среднем до 5% таких пар имеют заметные изменения хромосомного аппарата [8, 23].

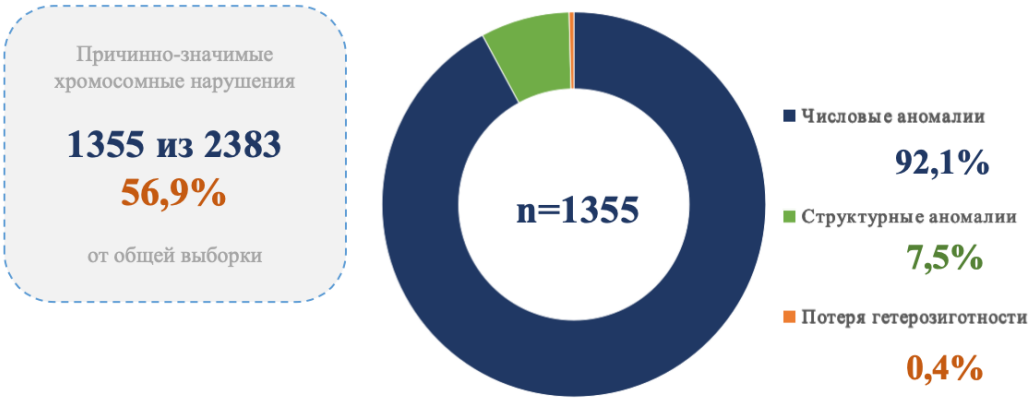


Рисунок 2 – Структура хромосомной аномалий в материале потерь беременности

Zhu et al. провели пятилетние исследования 2083 абортусов (Рисунок 2), полученных после в результате потери беременности у женщин с ПНБ с применением SNP CGH-анализа. Значимые хромосомные аномалии выявлены в 1355 образцах, что составило 56,9%. Среди аномальных результатов 1248 (92,1%), относились к числовым нарушениям, 102 (7,5%) – к структурным и 5 (0,4%) к участкам потери гетерозиготности (LOH). Числовые нарушения чаще выявлялись при возрасте матери 35 лет и старше и при потере беременности на сроке не более 12 недель. Способ наступления беременности не был статистически связан с частотой выявленных хромосомных аномалий [28].

В обзоре Melo и соавт. указано, что около 80% выкидышей происходит в первые 12 недель беременности. Более половины ранних потерь связаны с генетическими нарушениями эмбриона, главным образом с изменением числа хромосом или их структурными перестройками. Генетические причины включат не только анеуплоидии, но и отдельные генные варианты, а также наследуемые сбалансированные перестройки родителей. В работе отдельно рассмотрены генетические компоненты заболеваний и состояний, для котрых установлена связь с повторными потерями беременности [29].

Carey et al. провели систематический обзор генетических исследований потери беременности, опубликованных в Pubmed с январь 2000 по январь 2020 годов. Из 580 найденных записей 107 прошли отбор по названиях и аннотациям, а после чтения полных текстов в обзор были включены 54 исследования. Из них 9 работ изучали раннюю потерю беременности, 10 – потерю после 20 недель, 32 – привычное невынашивание и 3 – потери без разделения по сроку. В включенных работах исследовались хромосомные изменения, вариации числа копийности, ОНП, моногенные изменения, микроРНК, метилирование и белковые маркеры, связанные с развитием эмбриона, плода и плаценты [30].

Несмотря на многочисленные научные исследования возможных причин ПНБ, таких как сбалансированные перестройки, инфекции, неблагоприятные факторы окружающей среды, вредные привычки и т.д., до 50% причин привычных потерь остаются неизвестными [24, 27]. Эти случаи требуют глубокого изучения их этиопатогенеза и считаются идиопатическими.

Papas и соавт. сопоставили действовавшие международные алгоритмы обследования пар с ПНБ и данные о хромосомном микроматричном анализе материала выкидыша. По данным авторов, стандартное обследование по рекомендациям профессиональных сообществ позволяло установить возможное объяснение менее чем у половины обследованных пар. Сочетание 24-хромосомногомикроматричного анализа материала второй потери беременности с исследованиями, предусмотренными такими рекомендациями, давало объяснение более чем 90% случаев. В описанном алгоритме доля потерь, оставшихся без установленного объяснения, составляла менее 10% [23].

1.2 Вклад генов-кандидатов в привычное невынашивание беременности

1.2.1 Роль генов тромбофилии в патогенезе привычного невынашивания беременности

Большинство современных исследований, посвященных проблеме ПНБ, сосредоточено на анализе генов регуляции метаболизма фолатов и свертывающей системы [27]. Данные нарушения связаны с патологическим изменением сосудов плаценты и приводят к потерям беременности [3, 31]. Наиболее значимыми в патогенезе ПНБ являются полиморфизмы гена MTHFR (A1298C и C677T). Мутации этих вариантов приводят к увеличению уровня гомоцистеина и повышают свертываемость.

Метаанализ 2020 года проанализировал 39 исследований и результаты 14289 женщин, 5888 женщин с ПНБ и 8401 из группы контроля. Для варианта MTHFR A1298C объединенное отношение шансов составило 1,58 в доминантном варианте при 95% ДИ 1,25-1,99. Было установлено, что носительство гомозиготной мутации A1298C увеличивает риск ПНБ на 66% (OR=1,66, 95% ДИ 1,25-2,20). При этом, наиболее выраженный эффект наблюдался у женщин европейского происхождения, тогда как у восточноазиатских женщин достоверной ассоциации не установлено. Это подтверждает этническую модификацию эффектов [32].

Роль этнической однородности также подчеркнута работой арабских исследователей в 2023 году [33]. Сравнительный анализ 1417 женщин с ПНБ и 1242 группы контроля показал, что гомозиготоная мутация варианта C677T повышает риск привычного невынашивания в 4 раза (OR=4,19). Интересным в данном контексте представляется работа Zhang et al. (2020), в котором проанализированы сразу несколько генов фолатного метаболизма: MTHFR (A1298C), MTRR (A66G) и MTHFR (C677T). Результаты исследования показали, что первые два варианта достоверно повышали риск ПНБ, в то время как C677T демонстрировал протективный эффект (OR=0,75; p=0,02). Такой результат подчеркивает неоднозначность интерпретации генетических маркеров без учета популяционной специфики [34].

Параллельно с фолатным циклом важное место в патогенезе ПНБ занимают гены тромбофилии. Ретроспективный анализ, охвативший 812 пациентки, показал, что мутации генов F2, F5 и MTHFR также повышают риск ПНБ. Особенно значимым оказалась комбинированная мутация данных

полиморфизмов, что показывает важность комплексного генетического тестирования [35].

В ретроспективном когортном исследовании были изучены медицинские данные 812 беременных женщин, обследованных в специализированном перинатальном центре с января 2012 года по декабрь 2022 года. В контрольную группу были включены 588 женщин, а в группу с ПНБ 224 женщины. Гомозиготный генотип MTHFR C677T выявлен у 11,6% женщин с ПНБ и у 6,3% группы контроля (p-0,027). Для варианта MTFHR A1298C, фактора V Лейден, протромбина G20210A и уровня гомоцистеина статистически значимых различий между группами не зарегистрировано [35].

Khalife et al провели исследования по типу «случай-контроль» среди ливанских женщин с июня 2019 года по апрель 2020 года. В исследование вошли 120 женщин с ПНБ и 100 здоровых женщин. Участниц генотипировали по вариантам F5, F2 и MTHFR C677T. Частоты вариантов F5, F2 были статистически выше в группе в ПНБ, чем в контрольной группе [36].

Комплексный метаанализ, включающий 89 исследований с участием более 30 тысяч пациенток, продемонстрировал связь мутаций генов протромбина и фактора V с увеличением риска ПНБ. Гетерозиготные мутации данных полиморфизмов этих вариантов повышал риск в 2,44 раза, а при гомозиготном результате в 4,52 и 6,79 раз соответственно [37]. Сравнительное исследование 120 женщин с привычным невынашиванием и 100 женщин контрольной группы также установил ассоциацию с ПНБ. Было показано, что мутация в гене F5 достоверно чаще встречалась в основной группе, 17,5% против 6%. Такая же ассоциация выявлена и для гена протромбина (12,5%). Эти результаты подтверждают тренд, ранее выявленный в других выборках, но особенно связан с женщинами Восточного Средиземноморья, где частота мутантных аллелей традиционно выше [36].

Ингибитор активатора плазминогена 1 (PAI-1) является ключевым регулятором фибринолитического каскада, играющий важную роль между тромбообразованием и фибринолизом. Morrow et al. (2023) [38] обнаружили, что нарушение экспрессии PAI-1 способно вызывать гипофибринолиз, что может проявляться в виде тромботических и ишемических нарушениях, включая осложнения беременности. В исследовании Cho и соавт. (2021) также генотип 4G/4G чаще встречался у женщин с ПНБ по сравнению с контролем (p=0,05) и повышением риска в 1,52 раза [39].

Еще одним вариантом, повышающим риск привычных потерь является мутация в гене FGB. Гомозиготное носительство -455A приводит к повышению фибриногена в крови [39, 40]. С другой стороны, имеются данные об отсутствии достоверной связи с ПНБ. Согласно палестинскому исследованию на 102 женщинах и 97 из группы контроля обнаружено, что мутация в данном гене не ассоциирована с привычной потерей беременности [41].

Гены ACE и AGTR1 кодируют ключевые элементы ренин-ангиотензиновой системы, которая регулирует сосудистый тонус и водно-солевой баланс. Мутации в этих генах могут нарушать плацентарную перфузию

и способствовать развитию осложнений, включая привычное невынашивание [42].

Еще одним важным геном, участвующим в регуляции кардиоваскулярной системы является эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS). Данный ген является ключевым вазодилататором, регулирующим сосудистый тонус, агрегацию тромбоцитов и локальное воспаление [43]. В метаанализе Golestanpour и соавт. (2021) [44], включающим 39 исследований, показана ассоциация полиморфизма 4b/a и повышенного риска ПНБ (OR=1,17; ДИ: 1,02-1,35; p=0,025). Кроме того, в агрегации тромбоцитов и формировании тромба также участвует ген ITGB3. Нарушения в его функции потенциально вовлечены в патогенез тромбофилических состояний, в частности известен полиморфизм Leu33Pro. В исследовании Younis и др. (2023), проведенном в Саудовском Аравии, изучены результаты 150 женщин с ПНБ. В сравнении с 50 здоровыми контролями было обнаружено, что носительство мутантного аллеля увеличивает риск более чем в два раза (OR=2,1). Это подчеркивает значимость гена в развитии нарушений трофобластической инвазии и микротромбоза плаценты [45].

Результаты исследований показывают, что сочетание изученных вариантов ассоциированос высоким риском сосудистых осложнений, тогда как по отдельности эффект может быть менее выраженным [46].

1.2.2 Иммуногенетические механизмы в патогенезе привычного невынашивания

Формирование иммунной толерантности между материнским организмом и эмбрионом является сложным и динамическим процессом, в котором молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA) играют одну из ключевых ролей. Эти гены, в частности HLA DQA1, DQB1 и DRB1, участвуют в антигенной презентации и определяют характер взаимодействия между трофобластом и материнскими иммунными клетками (Т-хелперами) [30]. Патологии в этом взаимодействии могут нарушать иммунный баланс в пользу отторжения.

В исследовании Аймагамбетовой и коллег (2024) участвовало 188 женщин, из них 84 женщины с ПНБ и 104 из контрольной группы. Аллели HLA-DRB1 HLA-DQB1 и HLA-DPB1 определяли методом ПЦР с последовательность-специфичными праймерами. До коррекции на множественные сравнения положительные ассоциации зарегистрированые для DRB1*04:01:01, DRB1*14:01:01. После коррекции статистическая значимость не была выявлена. Также частоты для 7 исследованных аллелей DQB1 не показали значимых различий. Вариант DRB1*07:01:01~DQB1*02:01:01~DPB1*04:01:01 чаще встречался при ПНБ, а DRB1*13:01:01~DQB1*06:01:01~DPB1*02:01:01 – в контрольной группе [46].

Meuleman et al. включили в систематический обзор и метаанализ 41 исследование HLA при привычном невынашивании. В отобранных работах ПНБ определялось как не менее трех последовательных необъясненных потерь беременности. А женщины контроля имели как минимум одни роды и не имели

выкидышей. Для материнского аллеля HLA-DRB1*04 объединенной отношение шансов составило 1,41, а для HLA-DRB1*15 – 1,57. Для HLA-DRB1*13 и HLA-DRB1*14 отношения шансов составили 0,63 и 0,54 соответсвенно. Совпадения HLA-B у партнеров также чаще отмечалось в парах с ПНБ с OR 1,39 [47].

Один из наиболее масштабных метаанализов 2015 года, включающий 41 исследование, показал, что некоторые аллели DRB1 могут быть ассоциированы с риском ПНБ. В частности, носительство аллелей DRB1*04 и DRB1*15 ассоциировано с повышенным риском, тогда как варианты DRB1*13 и DRB1*14 связаны с защитным эффектом [48]. Сравнительный анализ индийских женщин установил связь аллеля DQB1*03:03:02 с привычным невынашиванием (OR=2,66; P=0,02; ДИ 1,47-4,87) [48].

В работе Святовой и соавт. (2021) было обнаружено, что вариант DQA1*0501 достоверно чаще встречался в группе женщин с ПНБ казахской национальности по сравнению с контролем (27,5% против 22%; p=0,03) [49].

Таким образом, работы в области генов иммунной регуляции показали неоднозначные результаты. В связи с чем, необходимы дальнейшие исследования, которые могут показать более достоверную связь с патогенезом ПНБ.

1.3 Эволюция молекулярно-генетических тестов при исследовании фетального материала

1.3.1 Возможности стандартного кариотипирования в диагностике причин ПНБ

Известно, что традиционное кариотипирование являлось «золотым стандартом» в генетическом тестировании абортного материала. Это метод визуализации хромосом с последующей количественной и качественной оценкой [50]. Данная процедура заключается в исследовании хромосом, выделенных из лимфоцитов периферической крови, под микроскопом. Хромосомы окрашиваются специальным методом, при котором создаются уникальные полосы. Это позволяет идентифицировать отдельные хромосомы, расположить в порядке по ISCN и оценить их структуру [51, 52].

Результат работы Никитиной и коллег (2018) показывает, что кариотипирование эмбриона при ПНБ имеет прогностическое значение для последующих репродуктивных исходов. Установлено, что выявление хромосомных аномалий ассоциируется с более благоприятным прогнозом последующих беременностей, тогда как случаи с нормальным кариотипом сопровождается высоким риском повторных потерь [53].

Исследование 2018 года показало высокую частоту хромосомных нарушений эмбрионов у женщин с ПНБ и спонтанными выкидышами. В рамках работы было проанализировано 75 абортусов. Было установлено, что высока вероятность выявления хромосомных аномалий эмбриона как при единичной потере беременности, так и при повторных случаях (82,4% и 73% соответственно) [54].

В работе Ozdemir et al. (2022) показано, что кариотипирование удалось провести не во всех случаях у женщин с ПНБ. При этом аномальный кариотип был установлен в 31% случаев. Наиболее частыми оказались трисомии (62,5%), среди которых преобладали трисомии 22 хромосомы (24%) [55].

Данный метод позволяет выявлять крупные числовые аномалии, а также структурные изменения размером более 5 мегабаз (Мб) [56], однако не выявляет микроделеции и микродупликации. Другим важным моментом является то, что при исследовании абортного материала требуется культивирование клеток хориона. Согласно различным исследованиям частота неудач варьируется от 10 до 40%. Это связано со сроком гестации, временем доставки биоматериала в лабораторию, условиями транспортировки и качеством полученного материала [57]. Дополнительным недостатком цитогенетического исследования является контаминация материнскими клетками. При отсутствии строгого макроскопического контроля, высока вероятность ложноотрицательного результата. Ряд исследований отмечает, что частота материнской контаминации достигает 29-89,7%, особенно в случае невозможности отделения хориона от децидуальной оболочки [58].

Тем не менее, Hanif и коллеги (2019) подчеркивают, что стандартное кариотипирование остается важным диагностическим инструментом в пренатальной диагностике, онкогенетике и исследовании детей с врожденными пороками и задержкой развития [59].

1.3.2 Применение FISH в исследовании абортного материала: преимущества и недостатки

Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH) относится к методам молекулярной цитогенетики и основана на использовании флуоресцентно меченных ДНК-зондов, специфичных к определенным хромосомных участкам. Отличием метода является возможность анализа интерфазных ядер без обязательного культивирования клеток [60]. Данное качество имеет особое значение в работе с абортным материалом, так как стандартное кариотипирование хориона напрямую зависит от роста клеточной культуры.

В работе Lebedev et al. (2004) исследовали 60 материалов самопроизвольных абортов первого триместра, для которых клеточное культивирование не дало результатов. FISH проводили на клетках цитотрофобласта и внезародышевой мезодермы, последовательно применяя зонды к разным хромосомам. Чистовые хромосомные нарушения выявлены в 32 (53%) случаев. В 6 из 32 патологий выявлен низкоуровневый мозаицизм по моносомиям 7, 15, 21 или 22 хромосом с преобладанием нормальной клеточной линии. Моносомия 21 и 22 хромосом обнаруживались в обеих тканях, тогда как моносомия 7 и 15 были выявлены только в цитотрофобласте. Мозаицизм в тканях хориона отмечен в 94% случаев против 29% при стандартном цитогенетическом исследовании ($p < 0,001$) [61].

Fejgin и коллеги (2005) применили FISH к материалу 59 самопроизвольных потерь и 61 медикаментозно прерванных беременностей первого триместра. Панель зондов включала исследования 13, 16, 18, 21, X и Y

хромосом. Анеуплоидии выявлены в 55,9% образцов после самопроизвольного аборта и 8,2% поле искусственного прерывания. По мнению авторов, данная панель охватывает приблизительно 75% наиболее распространенных анеуплоидий, встречающихся при самопроизвольных потерях [62].

В работе 2011 года выполнен ретроспективный анализ 5555 образцов, первоначально направленных на стандартное цитогенетическое исследование. Из них 4189 были отнесены к хореальной или эмбриональной ткани, а 1366 – к материалу неустановленного происхождения. Среди 3361 успешного стандартного исследования материалы эмбрионального происхождения 1734 (52%) были аномальными. После неудачного стандартного исследования FISH с зондами 13, 16, 18, 21, X и Y хромосом дала результат в 762 случаях из которых 181 (25%) с патологиями [63].

Работа 2011 года [64] показала, что применение флуоресцентного анализа позволяет получить успешные результаты у абортусов с контаминацией материнскими клетками. FISH показало, что в 41,49% образцов имелась контаминация материнскими клетками, кроме того в 11,4% случаев выявлена смешение материнского и эмбрионального материала. Дополнительно, флуоресцентная гибридизация позволила получить результаты с аномалиями в 44,4% образцов неудачных культур.

Применение FISH при исследовании фетального материала рассматривается как дополнение к стандартному кариотипированию. Метод позволяет выявлять наиболее частые анеуплоидии (хромосомы 13, 16, 18, 21, X и Y), однако не обеспечивает полной оценки всего хромосомного набора [62].

1.3.3 Использование MLPA в качестве дополнительного инструмента диагностики при невынашивании

Мультиплексная лигазная амплификация (MLPA) относится к молекулярно-генетическим методам, основанным на количественной оценке копийности ДНК за счет измерения числа сигналов от специфических зондов. В отличие от традиционного кариотипирования, MLPA также как и FISH не требует культивирования клеток и может применяться в случаях деградации ДНК абортусов [65]. В сравнительном анализе 2012 года показано, что эффективность кариотипирования низкая, тогда как осуществимость MLPA значительно выше (73% и 89% соответственно) [66].

В исследовании Caramins и соавт. (2011) было выявлено расхождение в 9 результатах в связи с контаминацией материнскими клетками. В 8 образцах установлены результаты с мужским кариотипом, тогда как ранее был определен кариотип 46, XX. При этом в половине из них были выявлены анеуплоидии аутосом, в том числе трисомии 8, 16, 17 и 18 хромосом. Еще один образец имел ложный результат 46, XX, хотя ранее был установлен мужской кариотип [67].

Последнее исследование 2025 года показывает возможности диагностики микрохромосомных аномалий методом MLPA. Анализ позволил определить 11 CNV, в частности, 8 гетерозиготных делеций и 3 дупликации. Дупликации ассоциированы с известными синдромами: Вольфа-Хиршхорна, Рубинштейна-Тейби и частичной трисомией длинного плеча 2 хромосомы. Среди делеций

клинически значимыми оказались утраты участков, связанных с синдромами Ди Джорджи, Ретта и Феллан-Макдермид. Патогенность других установить не удалось. Кроме того отмечено, что MLPA не позволяет установить точный размер CNV и полный перечень вовлеченных генов [68].

Отдельно подчеркивается, что MLPA эффективно выявляет анеуплоидии и микрополомки, однако имеет другие ограничения. Анализ проводится по определенным зондам, что не позволяет обнаруживать сбалансированные перестройки и редкие структурные аномалии вне панели. Дополнительным недостатком метода считается ограниченная чувствительность к низкоуровневому мозаицизму [69].

Сравнительные исследования показывают, что MLPA превосходит стандартное кариотипирование по числу информативных результатов, однако уступает методам с полногеномным охватом. В практической диагностике метод используется как альтернатива кариотипированию при невозможности культивирования клеток или самостоятельного метода для выявления частых аномалий при самопроизвольных потерях.

1.3.4 Особенности применения хромосомного микроматричного анализа в качестве самостоятельного метода диганостики

Хромосомный микроматричный анализ (ХМА, aCGH) – молекулярно-генетический метод, основанный на сравнительном анализе интенсивности гибридизации ДНК образца и референсной ДНК на микроматрицах, содержащей до нескольких миллионов равномерно нанесенных зондов [70]. Анализ основан на принципах геномной гибридизации, когда дифференциально меченая красным флюорохромом (Cyanin 3-dUTP) контрольная ДНК и меченая зеленым (Cyanin 5-dUTP) ДНК образца совместно гибридизуются с зондами. Различия между избытком и потерей фрагмента основаны на соотношении флюоресценции зеленого и красного сигналов (Cy-5/Cy-3). Усиление сигнала свидетельствует о дупликации, тогда как снижение указывает на потерю участка хромосомы [71, 72].

В сравнении с FISH и MLPA хромосомный микроматричный анализ позволяет одномоментно исследовать все хромосомы, без использования локус-специфичных зондов. Другим немаловажным преимуществом является возможность выявления не только числовых аномалий, но и вариаций числа копийности малых размеров, что является невозможным при стандартном цитогенетическом обследовании. Также метод не требует культивирования клеток и определяет низкоуровневый мозаицизм [73, 74]. Подробное сравнение методов детекции хромосомных аномалий приведено в Таблице 2.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика методов выявления хромосомных нарушений

Критерий	Кариотипирование	FISH	MLPA	ХМА
Принцип метода	Анализ метафазных хромосом; визуализация структуры и числа хромосом	Целевая гибридизация зонда к определенному участку	Количественная оценка копийности с использование локус-специфичных зондов	Гибридизация на микрочипах; сравнение ДНК образца с референсом от тысяч до миллионов зондов
Что обнаруживает	Анеуплоидии, крупные делеции/дупликации (>5 Мб), структурные аномалии (транслокации, инверсии)	Определенные анеуплоидии, наличие/отсутствие конкретных локусов	Целевые регионы, охваченные зондами набора (анеуплоидии, делеции/дупликации)	CNV малых размеров, анеуплоидии, низкоуровневый мозаицизм, определение границ и размеров CNV, вовлеченных генов
Разрешающая способность	Низкая	Средняя (фиксация на выбранном локусе)	Средняя (зависит от плотности зондов, пропускает мелкие CNV)	Очень высокая (от 10-50 тыс. п.н., зависит от платформы)
Охват генома	Полный геном с низким разрешением	Только специфические локусы	Целевой, обычно один или несколько хромосомных регионов	Полный геном
Культивирование клеток	+	-	-	-
Особенности интерпретации	Требует опытного цитогенетика; иногда трудно определять мелкие перестройки	Интерпретация проста	Интерпретация средняя	Требует биоинформатической обработки баз данных с определением патогенности CNV; иногда необходимо

Продолжение таблицы 2

Критерий	Кариотипирование	FISH	MLPA	ХМА
				сопоставление с фенотипом

В систематическом обзоре и метаанализе Pauta et al. (2018), включающим 23 исследования на 5507 случаях ПНБ до 20 недель, было проведено сравнение эффективности кариотипирования и ХМА. Результаты показали высокую диагностическую значимость aCGH. Информативность исследования составила 95% (ДИ: 94-96%) про сравнению с 68% при классическом кариотипировании. ХМА позволило выявить дополнительные микрополомки в 2% (ДИ 1-2%). Наиболее часто встречались делеции 22q11.21 (синдром Ди Джорджи) и 1p36.33 [75].

Схожие результаты продемонстрировали результаты систематического обзора 2019 года. Данный метанализ включает 7 исследований на основе результатов 1443 образцов, 903 (63%) абортуса из которых имели нормальный кариотип. В части работ методы применялись поэтапно с переходом от стандартной цитогенетики к aCGH, тогда как в других параллельно. Несмотря на различие в дизайне исследования, ХМА оставалось стабильно эффективным. Хромосомный микроматричный анализ позволил повысить долю информативных результатов с 75% при классическом кариотипировании до 90%. Дополнительная выявляемость CNV составила 3% (ДИ 1-5%), наиболее частой патологией также является делеция 22q11.21 [76].

В одномоментном проспективном исследовании 2017 года проанализировало 8118 образцов абортного материала при ПНБ методом ХМА. Информативные результаты получены в 91,1% случаев, при этом хромосомные аномалии выявлены в 53,7% образцов, причем 94% из них установлены как летальные. Наиболее распространенными нарушениями являются аутосомные трисомии (63,3%), триплоидия (11,8%) и моносомия X (11,2%). Делеции и дупликации были выявлены в 4,5% случаев [77].

Еще одна масштабная работа со схожим дизайном проведена Finley и соавт. в 2022 году. Были проанализированы 24900 образцов от женщин с ПНБ. Патогенные результаты получены в 55,8% случаев, кроме того, в 1,8% были выявлены варианты с неизвестной клинической значимостью (VOUS). Среди выявленных аномалий наиболее часто обнаруживались аутосомные трисомии (36%), полиплоидии выявлены в 7,8% случаев, а в 2,8% образцов были выявлены различные структурные аномалии [78]. Данные исследования подчеркивают необходимость включения ХМА в алгоритм исследования женщин с ПНБ (Таблица 3).

Таблица 3 – Сравнительная характеристика методов выявления хромосомных нарушений

Исследование	Количество образцов, включенных в исследование	Метод	Информа-тивность	Клинически значимые результаты	Дополни тельные находки
Систематический обзор и метаанализ [75]	5507	ХМА	95%	Дополнительно патогенные CNV - 2%	VUS - 4%
Крупная лабораторная серия [7]	8118	SNP array	91,1%	53,7%	-
Крупная лабораторная серия [78]	24900	SNP array	100%	55,8%	VUS - 1,8%
Ранние самопроизвольные аборты	505	CNV-seq	100%	54,3%	-
самопроизвольные аборты	580	CNV-seq	3 образца исключены из-за КМК	61,9%	КМК - 3

Важность исследования абортного материала на первом этапе, до поиска других причин ПНБ, подчеркнута в работе Popescu и коллег (2018). Авторы провели сравнение диагностических алгоритмов, рекомендованным ASRM и собственным. Согласно ASRM на первом этапе следует исключить хромосомные аномалии у родителей метод стандартного кариотипирования, затем провести диагностику аномалий матки, следующий шаг направлен на исключение иммунных и эндокринных патологий. Авторы подчеркнули, что при использовании данного подхода, в среднем на обследование пары затрачивается $3288,5. Анализ затрат показал, что при таком подходе результат получен только у 45% пар, а в 55% случаев дополнительно использовался ХМА абортного материала, что приводило к дополнительным расходам ($700). Применение ХМА позволило получить патогенные результаты в 67% образцов, следовательно использование ХМА как первичного теста позволило бы затратить всего $700 в этих случаях [79].

На фоне высокой доли невыясненных причин ПНБ, ХМА все чаще рассматривается как альтернатива или дополнение к классическому кариотипированию. Согласно обновленным рекомендациям ESHRE (2023)

ХМА абортного материала предлагается в качестве теста первой линии диагностики причин ПНБ [9]. В клинических рекомендациях RCOG (2023) подчеркивается, что ХМА позволяет уменьшить количество ложноотрицательных результатов и является более надежным методом диагностики по сравнению с классическим кариотипированием [7]. Традиционно ASRM рекомендовало кариотипирование родителей на начальном этапе, однако в обновленных рекомендациях также подчеркивается значение ХМА абортного материала в сравнение со стандартной цитогенетикой [8]. Обобщенная работа Eliwa et al. (2024) по анализу рекомендаций профессиональных сообществ показывает, что новые подходы к диагностике причин ПНБ позволят снизить долю идиопатических привычных потерь и потенциально снизить затраты системы здравоохранения [80].

Несмотря на явные преимущества ХМА имеет некоторые ограничения. К ним относятся: невозможность диагностики сбалансированных перестроек, несбалансированные перестройки за границей разрешения, однородительской дисомии, точечных мутаций. Имеющиеся ограничения не влияют на информативность метода, так как не являются летальными и не могут послужить причиной самопроизвольных потерь [73].

Несмотря на вышеперечисленные работы и рекомендации профессиональных сообществ, важно подчеркнуть, что на данный момент исследования по использованию хромосомного микроматричного анализа при идиопатической форме ПНБ, с исключением всех известных причин, отсутствуют.

1.4 Платформы и аналитические программы хромосомного микроматричного анализа

Несмотря на то, что результаты многочисленных исследований демонстрируют высокую эффективность ХМА абортного материала в диагностике причин ПНБ, некоторые технические аспекты применения остаются дискуссионными [81]. Одним из таких факторов является выбор технических платформ (микроматриц) и их разрешающая способность. Различные коммерческие чипы могут обладать разной чувствительностью к определеным типам геномных вариаций, что необходимо учитывать при интерпретации результатов [82, 83].

В исследовании Haraksingh et al. (2017) проведено сравнение микроматриц на стандартизированном эталоне NA12878, основанном на результатах базы данных «1000 геномов». Данный набор включает 2171 вариаций числа копийности, в том числе 2034 (93,7%) делеций и 137 (6,3%) дупликаций. Большинство из них локализовались на аутосомах (95,6%). Общее количество аутосомных CNV-находок варьировало от 4 до 489. Среди платформ, применяемых в клинической диагностике, Affymetrix CytoScan HD выявил наибольшее количество число подтвержденных CNV (57-67). Микроматрицы Agilent 4x180K-CGH обнаруживали 13-20 находок, а Illumina CytoSNP-850 в диапазоне 8-20. Следует отметить, что высокая чувствительность Affymetrix сопровождалась существенно большим уровнем

шума (до 71%). Большинство из них имели размер <25 килобаз (Кб). Тогда как уровень шума Agilent был равен 47%, но их размеры были более 25 Кб и могли достигать крупных размеров. Данные результаты показывают, что повышение чувствительности сопровождается увеличением уровня шума [84]. Стоимость ХМА может варьировать в зависимости от страны, лаборатории, объема тестирования, выбранной платформы и программного обеспечения. Однако, обзор прайса коммерческих лабораторий показывает, что стандартная aCGH обычно стоит дешевле. Сравнение платформ приведено в Таблице 4.

Таблица 4 – Сопоставление микроматричных платформ

Параметр	Affymetrix CytoScan HD	Agilent 4x180K-CGH	Illumina CytoSNP-850
Тип микроматрицы	SNP-ориентированная микроматрица с детекцией CNV	Только CNV	SNP-ориентированная микроматрица с детекцией CNV
Подтвержденные CNV	57-67	13-20	8-20
Неподтверженные CNV (шумы),%	71%	47%	31%
Размер шумовых находок	<25 Кб	>25 Кб до нескольких Мб	<25 Кб
Относительная стоимость	высокая	низкая	средняя

Помимо характеристик микроматриц, важное значение имеет этап биоинформатической обработки данных. После этапов гибридизации и сканирования результаты анализируются с помощью специализированных программ. Данные платформы обеспечивают визуализацию распределения сигналов, нормализацию интенсивности и анализ CNV. Наиболее часто в клинической практике используются программы Agilent CytoGenomics, Affymetrix Chromosome Analysis Suite (ChAS), BlueFuse Multi (Illumina) и Genoglyphix (Signature Genomics) [84].

Программа Agilent CytoGenomics выполняет полный цикл от загрузки файлов сканов до построений графических профилей геномного дисбаланса. Он автоматически формирует log2 ratio- и BAF-профили. Кроме того, данная платформа определяет участки делеций и дупликаций и позволяет выявлять мозаичные изменения. Воможность настройки порогов чувствительности, встроенные параметры качества и обработки результатов делают его удобным для практики [85].

Genoglyphix позволяет визуализировать полученные данные на основе клинических случаев. С этой целью исппользуется внутренняя база Genoglyphix Chromosome Aberration Database (GCAD). Сравнение выявленного профиля

CNV с базой GCAD позволяет ускорить интепретацию и подготовить предварительное заключение. Особенно это необходимо при редких и сложных перестройках [86].

Современные CytoGenomics и Genoglyphix, имеют интеграцию с международными базами данных (ClinVar, DECIPHER, ClinGen и Database of Genomics Variants). Эти ресурсы позволяют определить патогенность выявленных CNV. Дополнительно эти программы позволят сопоставить полученные результаты с описанными патогенными, VOUS и доброкачественными вариантами.

База ClinVar, поддерживаемая Национальным центром биотехнологической информации (NCBI), содержит сведения о клинической значимости структурных и нуклеотидных вариантов. Ее используют как первичный фильтр исключения доброкачественных CNV [87].

В DECIPHER (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources) содержатся данные полногеномного исследования пациентов и их фенотипическое описание. Это позволяет оценить клиническую значимость варианта [88]. ClinGen содержит утвержденные панели по генам и хромосомным регионам, подтверждающие связь выявленных вариантов с заболеванием [89]. Database of Genomic Variants (DGV) включает сведения о нормальных популяционных вариантах числа копийности и помогает исключить доброкачественные варианты [90]. Совместное использование этих программных решений и баз данных необходимо в интерпретации результатов ХМА. Сочетание аналитики, экспертной оценки и подтверждения по международным источникам обеспечивает высокую точность диагностики. При использовании такого подхода снижается вероятность ошибочной интерпретации геномных вариантов.

1.5 Идиопатическое привычное невынашивание беременности: современное понимание

Идиопатическое привычное невынашивание беременности (иПНБ) представляет собой состояние, при котором не удается выявить причину потерь после стандартного обследования. Как было упомянуто ранее, в клинической практике доля таких форм достигает практически 50% [2, 27].

В последние годы иПНБ рассматривается как полисиндромное нарушение, включающее совокупность изменений на уровне клеточных, молекулярных и эпигенетических структур [91].

Одним из ключевых направлений, определяющих современное понимание иПНБ, является изучение иммунных механизмов, не укладывающихся в рамки изученных состояний, таких как АФС или аутоиммунные заболевания. Процесс иммунной толерантности организма матери к плода реализуется на уровне децидуальной ткани и трофобласта. Этот процесс обеспечивается согласованной работой клеток иммунитета, включая Т-лимфоциты, цитокиновые сигнальные системы и главный комплекс гистовместимости. Нарушение этих механизмов приводит к избыточной активации иммунного ответа в зоне имплантации. Данное состояние

подтверждено клиническими и экспериментальными работами, подтверждающими связь нарушения иммунного равновесия с клинической формой иПНБ [92].

Другим важным компонентом являются гены иммунорегуляции (CTLA4, CX3CR1, LILRB1/2 и KIR), определяющие характер взаимодействии между клетками врожденного и адаптивного иммунитета. Эти варианты формируют генетический фон предрасположенности к нарушению толерантности в ранние сроки беременности [49, 93].

В работе Dimakou et al. (2022) показано, что у женщин с идиопатической формой ПНБ выявляются дисрегуляция Т-регуляторных клеток и NK-клеток, не связанные с известными синдромами иммунного дисбаланса [94]. Другое исследование 2025 года также подчеркивает роль врожденного, адаптивного иммунитета, воспалительных цитокинов. В данном исследовании также отмечают роль микробиома матки и рецептивности эндометрия. Показано, что у женщин с дисбиозом эндометрия отмечается снижение лактобактерий, что в свою очередь приводит к изменению локального цитокинового профиля. Кроме того, отмечается, что у женщин с нарушением микробиома увеличивается частота успешной беременности после проведения коррекции антибактериальной терапией и пробиотиками [95]. Сравнение исследований, посвященных вероятным иммунологическим причинам при иПНБ приведено в Таблице 5.

Таблица 5 – Сравнение иммунологических исследований при идиопатическом привычном невынашивании беременности

Дизайн	Выборка	Материал	Метод	Подтверждение / ограничение
Сравнительное исследование [94]	15 повторных потерь и 5 контроля (6 эмбрионов с нормальным и измененым хромосомным результатом	Децидуальная ткань	Масс-цитометрия	Выявлены различия отдельных подтипов макрофагов, NK- и Т-клеток
Сравнительное исследование середины лютеиновой фазы [95]	16 женщин с иПНБ и 11 контрольных	Эндометрий и периферическая кровь	Иммунофенотипирование и функциональные тесты NK-клеток	После поправки Холма-Бонферрони значимым осталось только снижение LILRB1

Продолжение таблицы 5

Дизайн	Выборка	Материал	Метод	Подтверждение / ограничение
				на периферических CD56bright и CD56dim NK-клетках; функциональные различия после поправки не сохранялись
Обзор иммунологии идиопатических повторных потерь [96]	Повторный самопроизвольный аборт (два и более)	Эндометрий, периферическая кровь, децидуальная ткань	Сопоставление врожденного и адаптивного иммунитета	После стандартного обследования причина остается неизвестной почти в половине случаев; исследование различались по ткани, сроку отбора и лабораторному методу
Обзор механизмов, противоречий и методов лечения [97]	Исследование NK-клеток, Treg, цитокинов, аутоантител и терапии	Периферические и маточные и иммуные показатели	Разные протоколы и пороговые значения	Показатели зависели от фазы цикла, материала и характеристик пациенток; схемы и результаты лечения были неоднородны

В последние годы фокус от материнских причин смещается в сторону исследования фетальных нарушений. Как показано выше, использование хромосомного микроматричного анализа позволяет определять субмикроскопические изменения – вариации числа копийности (CNV), к которым относятся делеции, дупликации, а также участков низкоуровневого мозаицизма. В нескольких крупных исследованиях показано, что применение

ХМА при анализе абортусов у женщин с ПНБ повышает частоту выявляемости клинически значимых CNV. Выявляемые субмикроскопические CNV нередко затрагивают критически важные гены для раннего эмбрионального развития, имплантации и формирования плаценты. Данные варианты требуют фенотипической корреляции для установления патогенности [96, 97].

Данные многочисленных исследований, проанализированных в ходе настоящего обзора свидетельствуют о том, что ХМА имеет значительные преимущества в сравнении со стандартным кариотипированием, FISH и MLPA. Хромосомный микроматричный анализ является предпочтительным методом диагностики несбалансированных хромосомных перестроек.

Несмотря на то, что существует множество исследований о диагностической ценности ХМА при исследовании абортного материала, все они посвящены общей когорте женщин с привычными потерями без разделения на идиопатические формы. В результате данные о частоте и спектре CNV при клинически выставленных иПНБ отсутствуют. Это ограничивает интерпретацию полученных данных и оценить роль геномного дисбаланса в патогенезе иПНБ. С учетом рекомендаций международных авторитетных сообществ (ESHRE, ACMG и RCOG), внедрение ХМА абортного материала в контексте иПНБ представляет особую ценность. В данной группе применение aCGH позволит перейти от гипотез к прямой оценке хромосомного статуса эмбриона. Недостаточная изученность проблемы не позволяет снизить вклад идиопатических форм привычного невынашивания и разработать алгоритмы диагностики пациентов ПНБ.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы

Дизайн исследования. Данная работа представляет собой проспективное обсервационное аналитическое исследование (Рисунок 3).

С учетом международных стандартов [8] разработаны собственные критерии отбора женщин с привычным невынашиванием беременности, клинические протоколы, СОПы, формы информированного согласия, информационные материалы для медицинского персонала и участников исследования на двух языках.

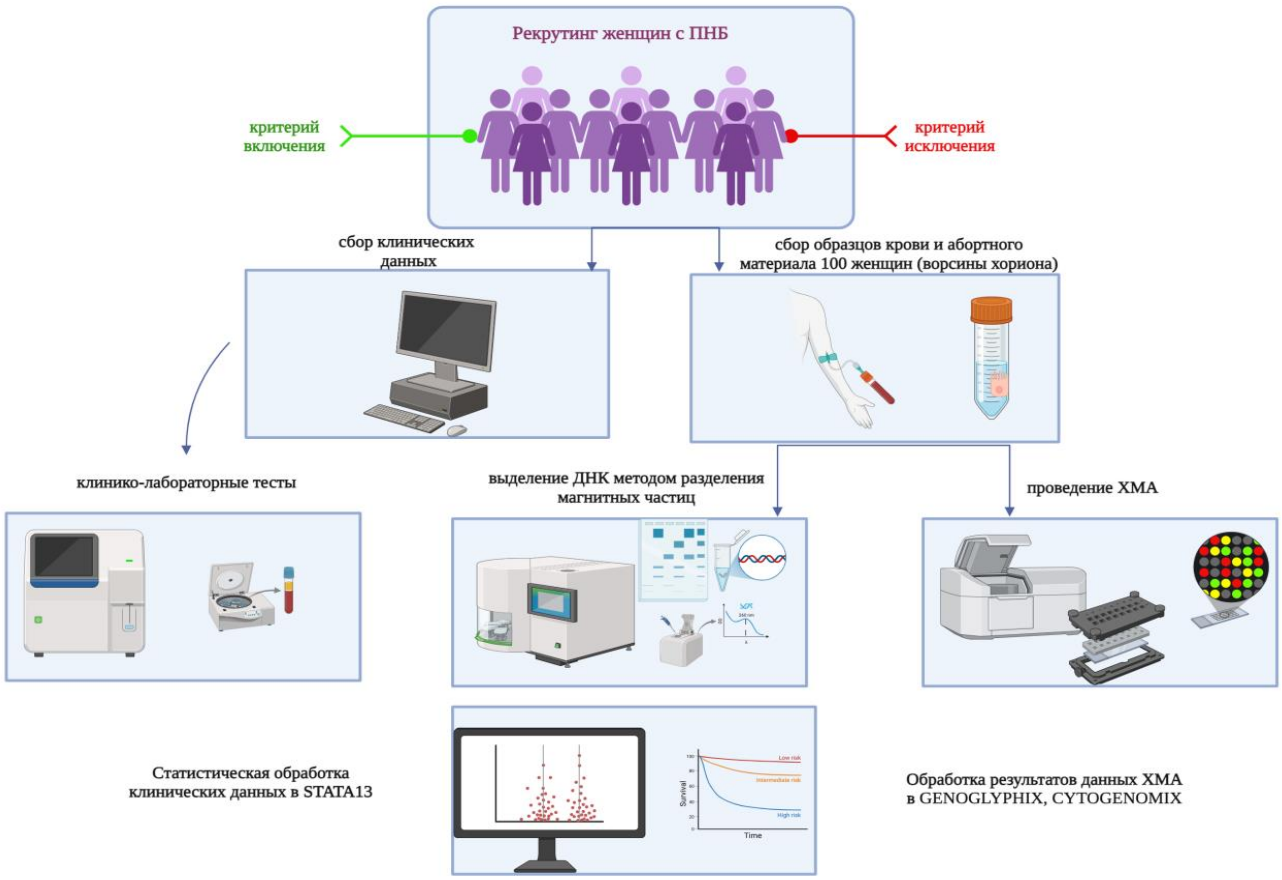


Рисунок 3 – Дизайн исследования

Критерии включения в исследование:

– Женщины в возрасте 18-45 лет;

– Наличие 2 и более ранних самопроизвольных выкидышей согласно рекомендациям ASRM;

– Наличие беременности подтверждено данными УЗИ и ХГЧ.

Критерии исключения из исследования [98, 99] (минимизация фенотипической гетерогенности и исключение известных причин ПНБ):

– Нарушение лютеиновой фазы;

– Наличие анатомических аномалий матки, диагностированных методом гистеросальпингографии, гистероскопии или соногистероскопии;

– Наличие сбалансированных хромосомных аномалий методом кариотипирования обоих супругов;

– Наличие антифосфолипидного синдрома, подтвержденного анализом anti-beta2-glycoproteinI (IgG/IgM) антител, anti-cardiolipin (IgG/IgM) антител, «волчаночный» антикоагулянт;

– Многоплодная беременность, подтвержденная УЗИ;

– Наличие инфекций, передающихся половым путем (бактериальные инфекции: сифилис, гонорея и др.; вирусы: гепатиты В и С, вирус простого герпеса, корь и пр; паразитарные и др.), подтвержденные двумя различными анализами (IgG/IgM, ПЦР; ПЦР Real Time);

– Нарушения функции щитовидной железы по анализам.

Диссертационная работа выполнена в рамках фрагмента «Молекулярно-генетические предикторы и медико-социальные детерминанты ранних репродуктивных потерь в казахской популяции» целевой программы «Молекулярно-генетические способы досимптомной диагностики и методы лечения ряда значимых заболеваний» 49019/ПЦФ-МЗСР-ОТ-18. Отбор пациентов в поликлиническом отделении НЦАГиП. Полногеномный анализ проводился в лаборатории «Центра Молекулярной Медицины».

Материалом исследования послужила ДНК, выделенная из абортного материала (ворсины хориона) 100 женщин с клиническим диагнозом иПНБ. Концентрация ДНК и индекс чистоты (A260/A280) измерялись на Spectrophotometer NanoDropLite (США). Для исследования допускалась концентрация не менее 91 нг/мкл, A260/A280 от 1,8 до 2,0 [100]. Требования к образцу [101]: для анализа используются ворсины хориона. Сбор материала в стерильные, герметичные контейнеры со стерильным физиологическим раствором. Минимальное количество: 1 образец фетальной ткани 1×1×1 см. Рекомендуемое время доставки: 8 часов после взятия образца. Хранение при 2-8℃. Длительное хранение в условиях -20℃. Подробные этапы преаналитического и лабораторного контроля биоматериала в Таблице 6.

Таблица 6 – Преаналитическая и лабораторная прослеживаемость биоматериала

Этап	Объект контроля	Требования	Регистрируемые сведения	Результат
Сбор материала	Ворсины хориона	Фрагмент ткани 1×1×1, герметичный контейнер со стерильным физиологическим раствором	Тип ткани и пригодность отобранной ткани	Передача материала на лабораторную обработку

Продолжение таблицы 6

Этап	Объект контроля	Требования	Регистрируемые сведения	Результат
Визуальный отбор	Примесь крови и материнской ткани	Отбор ворсин без видимой примеси крови	Состояние и пригодность отобранной ткани	Снижение риска КМК
Прием материала	Маркировка контейнера	Соответствие маркировки направлению, герметичность, достаточное количество	Дата и время получения, состояние контейнера, тип ткани, пригодность	При расхождении идентификации материал не включается до разрешения несоответствия
Кодирование	Участница исследования, контейнер и образец	Единый уникальный исследовательский код (например, Р-02-02)	Связь кода с анкетой, биоматериа-лом и результатом	Прослеживаемость без прямых идентификаторов в аналитической таблице
Допуск	Пригодность образца	Достаточное количество ткани, корректная идентификация и отсутствие очевидного несоответствия типа материала	Решение о допуске и выявленное ограничение	Допуск к выделению ДНК либо регистрация причины ограничения
Документирование	Лабораторная цепочка	Последовательно фиксируются выделение, измерение ДНК, набор реагентов, мечение, очистка, гибридизация, сканирование и аналитический файл	Код образца и причина повторения этапа, если оно выполнялось	Связь итогового результата с первичными измерениями и микроматрицей

Продолжение таблицы 6

Этап	Объект контроля	Требования	Регистрируемые сведения	Результат
Хранение данных	Цифровые сведения и согласия	Цифровые данные - на защищенных паролем на компьютерах, а подписанные информированные согласия в сейфе	Права доступа и место хранения	Ограничение доступа к данным протокола и согласия
Аналитическая прослеживаемость	Автоматический вызов CNV и окончательная категория	Исходный вызов и экспертная классификация сохраняются раздельно	Причина отклонения артефакта или объединения соседних сегментов	Возможность восстановить основание окончательной интерпретации

2.2 Методы исследования

Для проведения исследования значимых вариаций числа копийности фетального генома, предрасполагающего к развитию иПНБ были использованы следующие методы:

1) Исследование включало анализ абортного материала, полученного от женщин с рецидивирующими потерями беременности, ранее расцененными как идиопатические.

На первом этапе проводилась FISH абортного материала согласно стандартной операционной процедуре 04Л-СОП-3-05 лаборатории ЦММ.

Данный метод бы выбран в связи с относительной простой технологией. Метод не требует культивирования клеток и не представляет трудности в интепретации. Кроме того исследование включено в Тарификатор медицинских услуг Республики Казахстан. Этапы проведения FISH приведены на Рисунке 4.

Для исследования отбирались ворсины хориона без примеси крови. После чего проводилась гибридизация с использованием зондов на 13, 18, 21, X и Y хромосом (D21S259, D21S341, D21S342, D18Z1, DXZ1, DYZ3).



Рисунок 4 – Этапы проведения FISH

Интерпретация образцов с использованием флуоресцентного микроскопа с соответствующими наборами фильтров (Рисунок 5). Оценка должна проводится минимально на 50 ядрах.

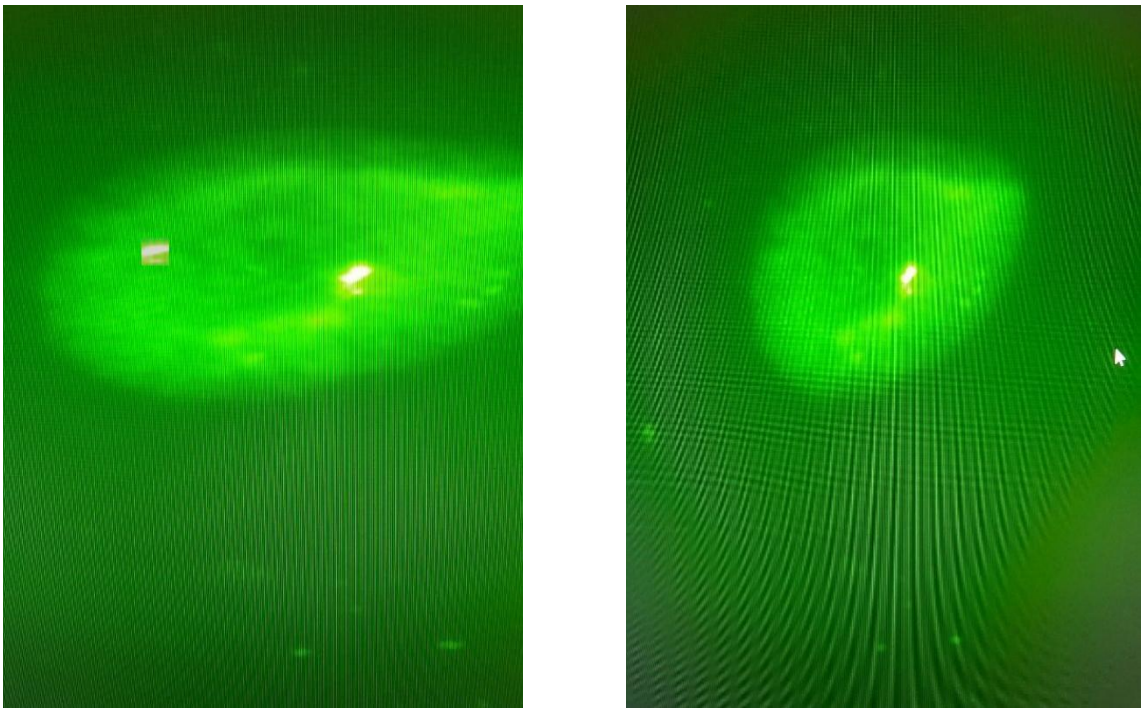


Рисунок 5 – Пример нормального женского результата и моносомии X в результате FISH

Анализ проведен на 40 образцах, однако учитывая характер абортного материала, выраженный аутолиз, во всех случаях не удалось достичь результата.

В связи с чем было решено использовать ХМА, позволяющий проведение исследования даже на деградированной ДНК.

Выделение ДНК из абортного материала (Рисунок 6) женщин с предварительным диагнозом иПНБ [102] проводилось методом патентной технологии магнитного разделения частиц M-PVA на автоматическом анализаторе Prepito (PerkinElmer) для выделения нуклеиновых кислот ChemagicPrepito (Wallac, Финляндия) с использованием комплекта реагентов PrepitoDNA CytoPure (каталожный номер CMG-2034).

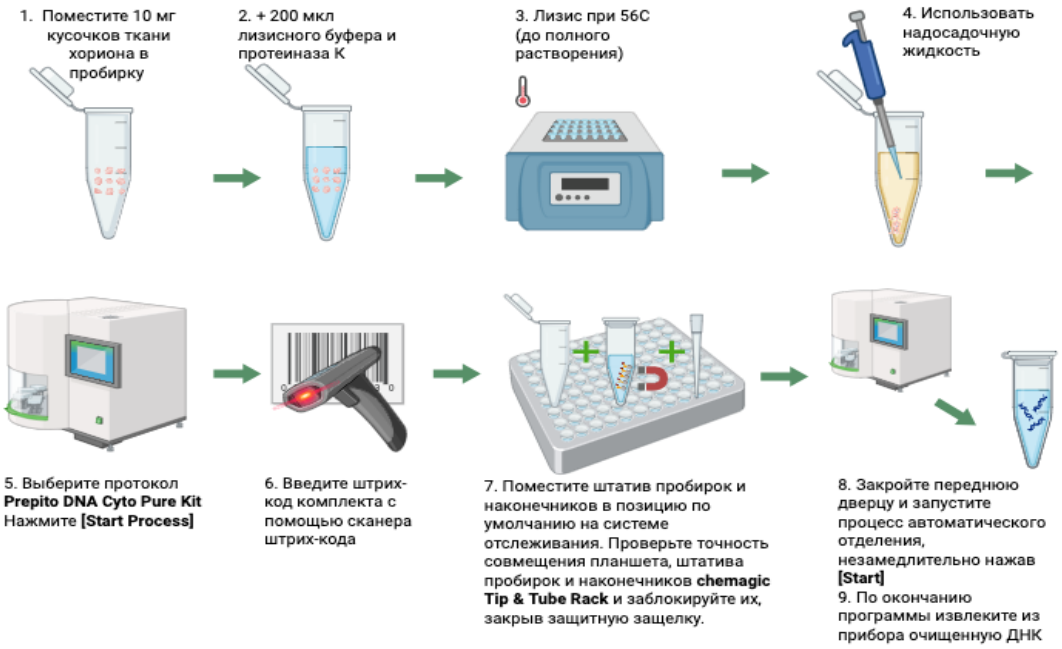


Рисунок 6 – Выделение ДНК

Данный метод позволяет выделять нуклеиновые кислоты как из свежесобранных образцов, так и из замороженных биологических проб (кровь, плазма, сыворотка, ткани человека и животных, культуры бактерий, растений, пищевых продуктов и др.). Он обеспечивает полное отсутствие вероятности кросс-контаминации.

Концентрацию ДНК и A260/A280 измеряли с использованием Spectrophotometer NanoDropLite.

2) Анализ несбалансированных хромосомных нарушений при идиопатической форме привычного невынашивания проводился методом сравнительной геномной гибридизации на микроматрицах (aCGH). В исследовании использованы микроматрицы CGX^{TM} (8x60K), backbone resolution 190 Kb (one probe every 95 Kb). Высокоточный хромосомный микроматричный анализ (aCGH) позволяет исследовать структуру всего генома и выявлять все типы несбалансированных хромосомных нарушений.

Хромосомный микроматричный анализ состоит из 3 последовательных этапов [103]: мечения, очистки, гибридизации и сканирования (Рисунок 7).

На первом этапе, после смешивания ДНК образца с референсной, проводится полногеномная амплификация с дальнейшей рестрикцией на фрагменты до 25 нуклеотидов и фрагментация. После чего ДНК образца и референсная ДНК последовательно метятся Су-5 и Су-3. В качестве референса при исследовании берется только мужская ДНК. После инкубации при 37°С в течение 2 часов образцы хранятся до одного месяца в морозильнике.

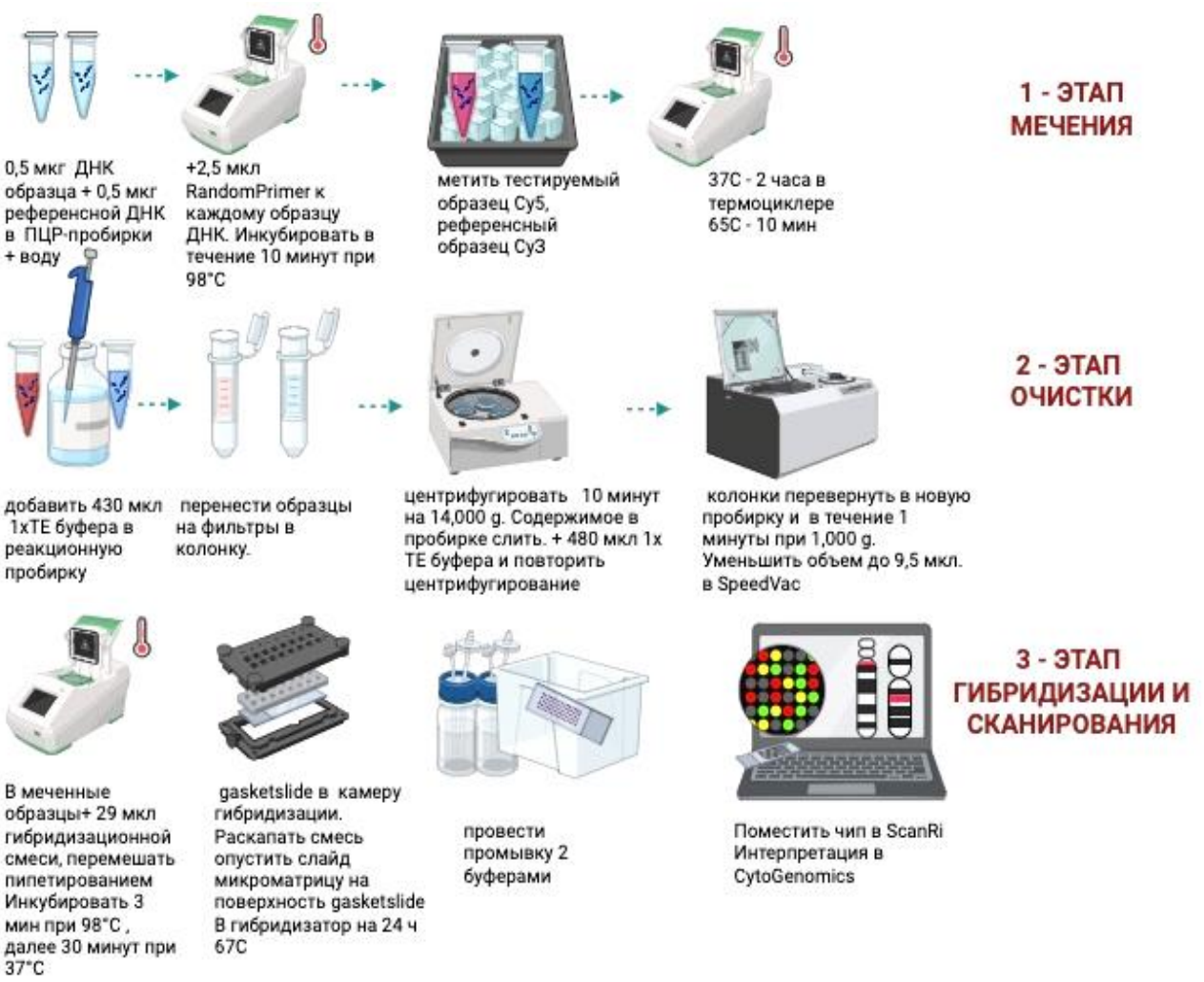


Рисунок 7 – Этапы проведения ХМА

На втором этапе происходит последовательная очистка. Для этого используется 1×ТЕ буфер. Для каждого образца используется специальная колонка-фильтр, после образцы центрифугируются на высоких оборотах. Снова используется 1×ТЕ буфер и повторное центрифугирование. На следующем этапе, образцы переносятся в чистые пробирки. В последующем, полученные образцы высушиваются в концентраторе SpeedVac. Далее с целью получения одинакового объема образцов добавляется 9,5 мкл безнуклеазной воды.

На третьем этапе проводится гибридизация образцов. В меченые и очищенные образцы добавляется гибридизационная смесь, а затем происходит инкубация в термоциклере. Гибридизационная печь заранее нагревается до

67°C. Собирается камера гибридизации и на нее устанавливается уплотнитель (gasket slide), на который последовательно наносятся образцы. После чего поверх уплотнителя аккуратно укладывается микроматрица, камера закрывается. Гибридизация проводится в течение 24 часов. По окончании процедуры микроматрица извлекается с использованием пинцета и проводится промывка в двух буферах на магнитных мешалках. После промывки микроматрица сканируется в ScanRi.

3) Статистическая обработка проведена с использованием *Python 3.7.8,* Подготовка данных, анализ и построение графиков выполнена в одной программной среде. Использование данного языка программирования обеспечивает возможность сочетания классических методов биостатистики и инструментов аналитического программирования.

Для работы с таблицами и проверки полноты данных, обрабоки пропущенных значений использовались библиотеки *pandas 1.3.5* и *numpy 1.21.6*. Использвание этих функций позволяет сформировать корректную аналитическую базу и объективно оценить распределение клинико-лабораторных параметров [104, 105].

Для анализа распределения признаков, оценки корреляции и построения регрессионной модели применяли библиотеки *scipy 1.7.3* и *statmodels 0.13.5,* Данный аналитический этап включает оценку распределений признаков, расчет коэффициентов корреляции, проверку статистических гипотез и построение регрессионных моделей

Построение графиков результатов осуществлялось с использованием *matplotlib 3.5.3, seaborn 0.12.2* и *plotly 5.18.0*.

Все этапы статистической обработки выполнялись в виде последовательных шагов, прдетсавленных на Рисунке 8.Это позволило исключить ручные изменения данных. Дополнительно такой подход обеспечил полную воспроизводимость анализа. Такая приверженность современным требованиям к обработке биомедицинских данных позволяет гарантировать прозрачность и повышает точность и устойчивость полученных данных.

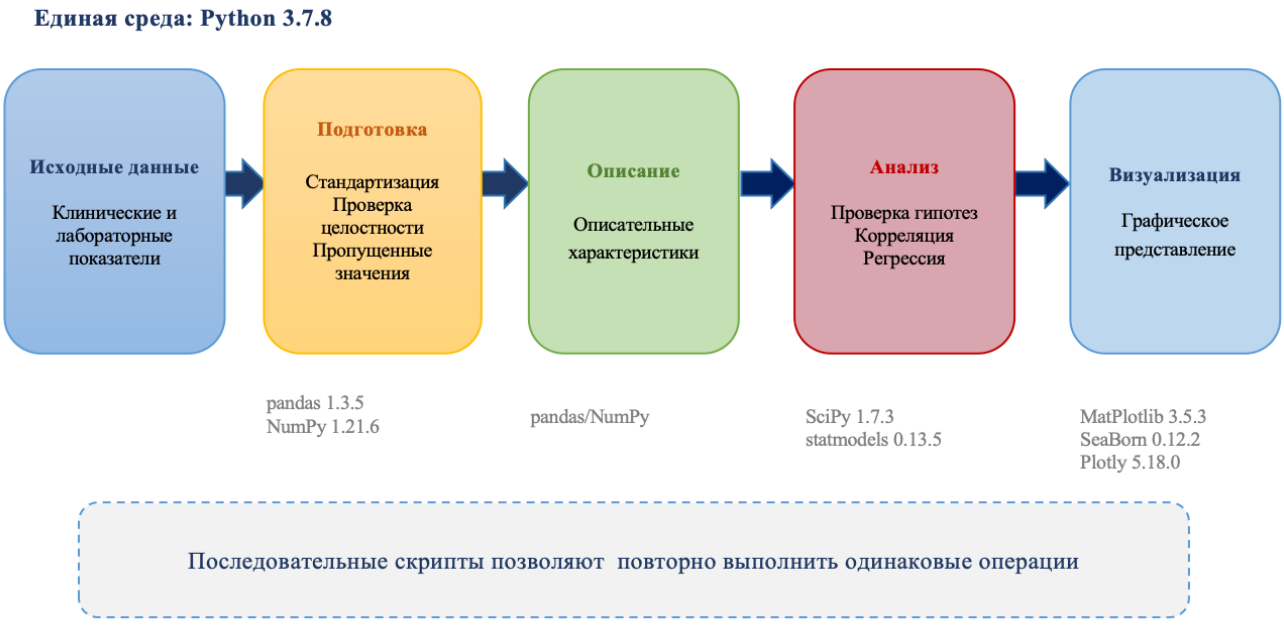


Рисунок 8 – Последовательность статистической обработки данных

Для визуализации полученных результатов использовалась программе Genoglyphix (рисунок 9). Интерпретация CNV и классификация клинической значимости проводилась на основании рекомендаций Американского колледжа медицинской генетики (ACMG) и консорциума ClinGen [79].

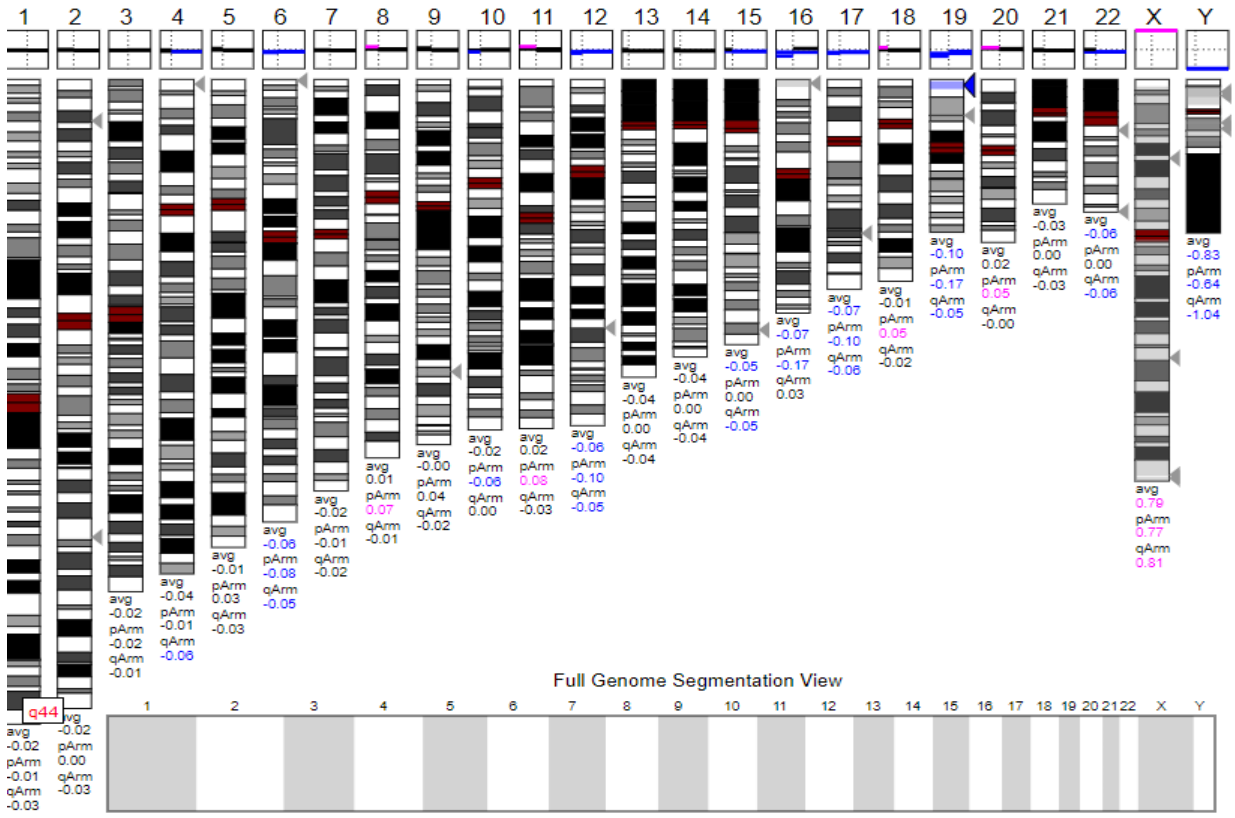


Рисунок 9 – Пример кариограммы

Все выявленные CNV классифицировались по степени клинической значимости и по категориям (патогенные, вероятно патогенные, варианты с неизвестной клинической значимостью – VOUS, вероятно доброкачественные и доброкачественные).

При интерпретации CNV учитывались размер перестройки, тип (делеция/дупликация), локализация, содержание геном в пределах перестройки, а также перекрытие с известными синдромами. Аннотация генов проводилась с использованием баз данных OMIM, ClinGen Dosage Sensivity Map, DECIPHER и др. [87-90]. Для оценки частоты встречаемости CNV использовались DGV gnomAD Structural Variants [90].

Последовательность интерпретации и классификации CNV представлены на Рисунке 10. CNV рассматривались как патогенные и вероятно патогенные при наличии одного или нескольких критериев, рекомендованных ACMG: перекрытие с критическим регионом известного микроделеционного или микродупликационного синдрома; вовлечение генов с подтвержденной дозочувствительностью; значительный размер перестройки; отсутствие варианта в популяционных контрольных выборках [81]. Для абортного материала дополнительно учитывались опубликованные данные о данные о выявлении аналогичных CNV в продуктах зачатия при спорадических и повторных потерях.

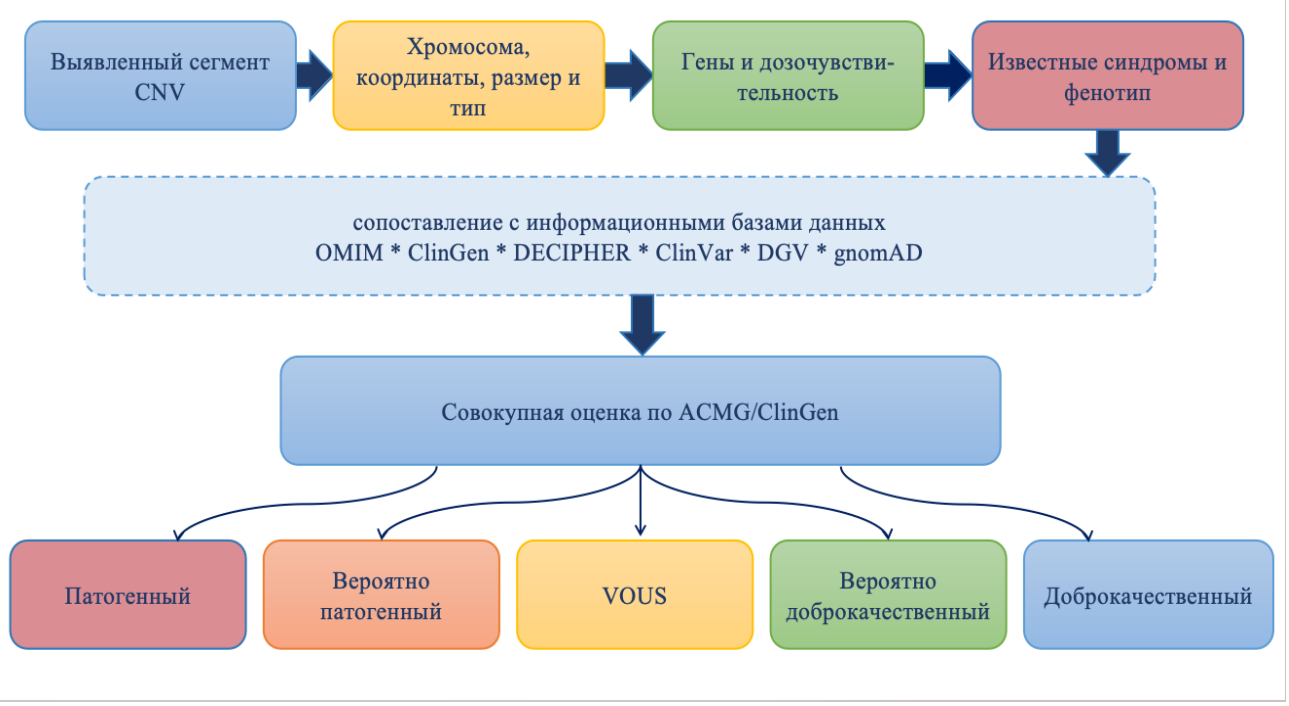


Рисунок 10 – Этапы интерпретации и классификации CNV

2.3 Этические аспекты

Все процедуры, выполненные в рамках исследования, соответствовали Хельсинской декларации и действующим правовым актам в РК [106, 107].

На исследование получено разрешение биоэтической комиссии НЦАГиП. Всем участникам предоставлена информация об исследовании и условиях участия. Кроме того, протокол исследования и согласия рассмотрены и утверждены локальной этической комиссией Медицинского Университета Астана (решение №4 от 03.10.2023 года). Заключение биоэтической комиссии в ПРИЛОЖЕНИИ Г.

Получение информированного согласия проводилось после разъяснения всех процедур исследования, порядка использования биоматериала и гарантий конфиденциальности. Участие в исследовании не влияло на характер медицинской помощи и не ограничивало право пациентки отказаться от продолжения участия без каких-либо последствий. Информация об исследовании и формы согласия были подготовлены на русском и казахском языках, чтобы каждая пациентка могла получить объяснения в доступной для нее форме.

2.4 Уязвимая группа

В исследование были включены женщины с идиопатической формой привычного невынашивания беременности. Это предполагает наличие риска выраженной психологической и репродуктивной нагрузки. Повторные потери беременности формируют состояние, которое рассматривается как фактор повышенной уязвимости. Ттакие пациентки могут переживать выраженное эмоциональное напряжение, тревогу и ощущение неопределенности при последующей беременности. При работе с данной группой учитывали возможную психологическую нагрузку. Особое внимание уделялось корректности информирования, отсутствию давления со строны исследователей.

2.5 Хранение данных

Конфиденциальность персональных данных обеспечивалась в соответствии с законом РК «О персональных данных и их защите» [108]. С целью сохранения анонимности в клинической анкете с результатами лабораторных анализов, анамнезом и образцам биоматериала был присвоен код. Кодирование производилось с учетом информации названия исследования (иПНБ), центра, участника и типа биоматериала, например, Р01-02-02. Все данные, полученные во время проведения исследования, хранятся в цифровом формате на персональном компьютере исследователя и научного руководителя. Доступ к данным защищен паролем. Информированные согласия, подписанные участниками, хранятся в сейфе.

2.6 Плата за участие

В информации для участников прописано, что оплата за участие в исследовании не предусмотрена.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клинико-анамнестические характеристики женщин с иПНБ

Проведен анализ демографических и антропометрических характеристик (Таблица 7). Исследуемая группа пациенток представляет собой относительно однородную популяцию без выраженных смещений по возрасту и другим параметрам. Средний возраст обследуемых составил 33,2±6,1 года (медиана – 32,0). Это указывает на включение женщин преимущественно в пределах биологически оптимального репродуктивного периода. Не установлено существенного преобладания возрастных крайностей, которые могли бы выступать самостоятельным фактором риска прерывания беременности. Размах значений (21-49 лет) показывает присутствие отдельных пациенток более старшего возраста. Однако коэффициент вариации (18,38%) и распределение по критерию Шапиро-Уилка (p=0,08) подтверждает нормальное распределение выборки.

Антропометрические показатели также не выявили признаков выраженных отклонений. Средний вес составил 62,6±10,5, медиана 61 кг. Умеренный коэффициент вариации (16,81%) свидетельствует об отсутствии выраженного ожирения или дефицита массы тела, которые могли бы выступать факторами риска. Распределение по росту (163,6±6,0 см) подчеркивает относительную однородность выборки. Отсутствие крайних отклонений в фенотипе позволяет оценить последующие акушерские и генетические характеристики, минимизируя вероятность влияния внешних факторов.

Акушерский анамнез женщин включал количество беременностей, а также число родов в срок. Проанализировано число преждевременных родов, ранних и поздних самопроизвольных выкидышей, а также медицинских абортов. Среднее количество беременностей составило 4,3±2,28, что указывает на так называемую репродуктивную компенсацию. Это явление характеризуется увеличением числа беременностей после предыдущих потерь с целью компенсации. В резуотате анализа установлено, что максимальное число беременностей составило 11. При этом количество родов в срок (37-41,6 неделя) оказалось низким (среднее 0,9±1,08). Показатель медицинских абортов в анамнезе является минимальным (0,3±0,64), это также связано с ориентированностью исследуемых на максимальное сохранение каждой наступившей беременности. Среднее число самопроизвольных абортов до 12 недель составило 2,7±1,3, медиана – 2,0. Эти показатели подтверждают преобладание ранних потерь. Минимальное значение составило 2, что соответствует критерию включения, а максимальное до 8. Коэффициент вариации 45,97% указывает на высокую неоднородность выборки.

Таблица 7 – Клинико-анамнестические показатели женщин с иПНБ

Показатель	Возраст	Вес	Рост	Всего беременностей	Роды в срок	Преждевременные роды	Ранний с/аборт	Поздний с/аборт	Медицинский аборт	Неразвивающиеся беременности
Среднее	33,2±6,1	62,6±10,5	163,6±5,98	4,3±2,28	0,9±1,08	0,2±0,62	2,7±1,3	0,2±0,49	0,3±0,64	0,83±0,95
Медиана	32,0	61,0	165,0	4,0	1,0	0,0	2,0	0,0	0,0	1,0
Мода	31,0	60,0	165,0	2,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	1,0
Минимум	21,0	42,0	147,0	1,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0
Максимум	49,0	91,0	178,0	11,0	4,0	4,0	8,0	3,0	3,0	3,0
Размах	28,0	49,0	31,0	10,0	4,0	4,0	6,0	3,0	3,0	3,0
Коэффициент вариации,%	18,38	16,8	3,65	53,02	115,9	311,5	45,97	291,9	241,8	114,95
Доверительный интервал, мин	31,94	60,67	162,43	3,9	0,2	0,19	2,47	0,07	0,1	0,16
Доверительный интервал, макс	34,38	64,83	164,81	4,7	5,5	0,97	2,97	0,27	0,88	4,6
Стандартая ошибка среднего	0,6	1,05	0,59	0,2	0,1	0,06	0,13	0,05	0,1	0,1
Shapiro p-value	0,08	0,02	0,11	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Преждевременные роды характеризуются началом родовой деятельности в 22-36,6 недель беременности. Этот показатель оказался крайне низким 0,2±0,62, что согласуется с концепцией идиопатического привычного невынашивания беременности ключевым проявлением выступают именно ранние потери. Высокий коэффициент вариации объясняется крайне низкой частотой события. Поздние самопроизвольные потери в сроках 13-21,6 недель встречались также редко, в 0,2±0,49% случаев, что соответствует общемировой эпидемиологии.

На рисунке 11 показана слабая положительная корреляция между увеличением массы тела и возраста (коэффициент Пирсона r=0,25; p=0,014; коэффициент Спирмена r=0,251; p=0,012). График демонстрирует отсутствие резких возрастных изменений массы тела. При этом крайние значения встречались в различных возрастных группах, что соответствует физиологическим закономерностям женщин репродуктивного возраста.

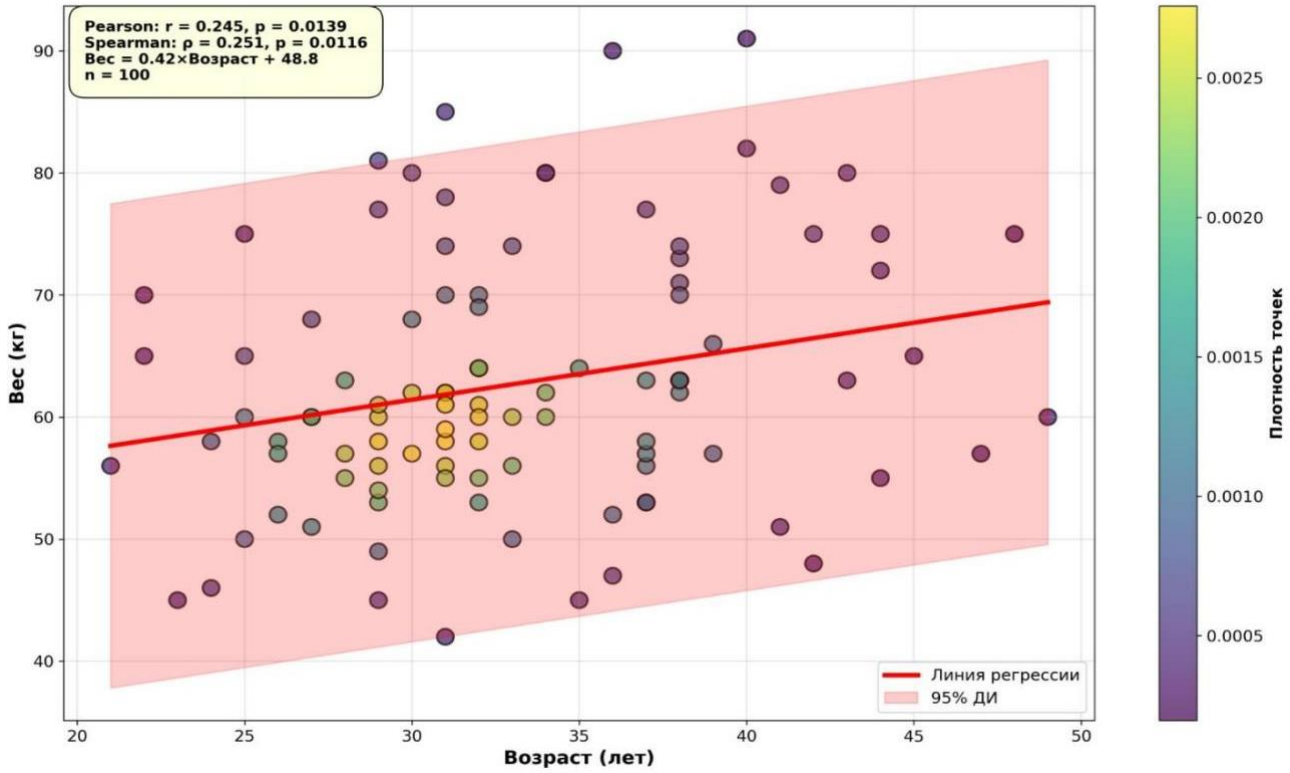


Рисунок 11 – Корреляция веса и возраста женщин с иПНБ

Широкий доверительный интервал показывает умеренную рассеянность данных. Показатель подтверждает, что возраст объясняет лишь небольшую вариабельность массы тела. Следовательно, данные характеристики еще раз подчеркивают отсутствие связи антропометрических показателей с патогенезом иПНБ.

Представленные данные на Рисунке 12 показывают низкую распространенность факторов риска привычных потерь. При анкетировании женщины отмечали наличие или отсутствие воспалительных заболеваний

репродуктивной систем, хронических болезней, врезных привычек и отягощенной наследственности.

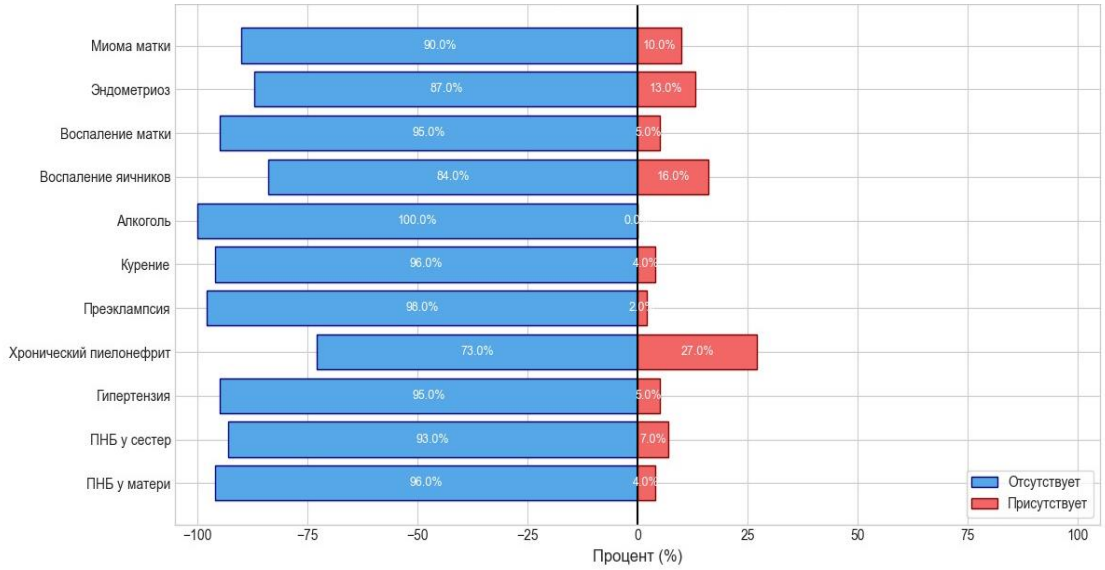


Рисунок 12 – Частота факторов риска женщин с иПНБ

Анализ факторов риска показал их низкую распространенность в исследуемой группе. отсутствие их сочетания также мало ассоциировано с развитием иПНБ. Анатомические и воспалительные заболевания малого таза, влияющие на имплантацию и плацентацию, выявлялись у ограниченного количества обследуемых. Миома матки и эндометриоз в установлены 10% и 13% случаев соответственно. Хронический эндометрит встречался в 5%. Вместе с тем отмечено увеличение частоты хронического пиелонефрита в 27% случаев. Воспалительные заболевания придатков встречались у 16% женщин с иПНБ. Вредные привычки практически отсутствовали. Со слов участников проекта постоянное курение отмечено в 4%, а употребление алкоголя не фиксировалось ни в одном случае.

Отягощенный семейный анамнез по ПНБ выявлен в редких случаях. В 2% у матерей обследуемых и в 7% у сестер. Эти данные подтверждают отсутствие наследственной отягощенности в основной когорте участниц исследования.

Общая структура распределения факторов риска формирует достаточно однородный малонагруженный фон. Такой характер данных подчеркивает, что выборка не является клинически отягощенной, а частота репродуктивных потерь не объясняется простой суммой вредных привычек, отягощенного наследственного анамнеза, известных соматических или гинекологических патологий.

В целом, представленные статистические данные демонстрируют, что выборка не характеризуется выраженной возрастной или конституциональной отягощенностью, типичной для некоторых когорт пациенток иПНБ [109].

Напротив, в совокупности данные указывают на то, что в основе патологического процесса, вероятнее всего лежат молекулярные,

иммунологические и цитогенетические факторы, а не внешние поведенческие или соматические факторы. Исключение факторов возраста и веса также позволяют предположить, что в патогенезе иПНБ лежат механизмы, напрямую влияющие на процессы имплантации и эмбриогенеза.

3.2 Клинико-лабораторные показатели женщин с иПНБ

Изучение показателей общего анализа крови в обследованной группе также показывает в целом сохраненный профиль без выраженных системных нарушений. Отсутствие значительных отклонений не позволяет рассматривать их как ведущий фактор репродуктивного риска (Таблица 8).

Таблица 8 – Показатели общего анализа крови женщин с иПНБ

Показатель	Гемоглобин	Эритроциты	Гематокрит	Тромбоциты	Лейкоциты	СОЭ
Среднее	126,1±13,3	3,7±0,6	38,1±3,5	252,1±61,3	7,3±2,2	13,3±10,6
Медиана	122,0	3,8	40,0	244,0	7,0	10,0
Мода	120,0	4,0	40,0	200,0	7,0	10,0
Минимум	96,0	2,5	28,0	180,0	3,3	3,0
Максимум	169,0	5,0	44,0	426,0	13,4	60,0
Размах	73,0	2,5	16,0	246,0	10,1	57,0
Коэффициент вариации, %	10,56	16,52	9,07	24,32	29,7	79,7
Стандартная ошибка среднего	1,32	0,06	0,34	6,1	0,22	1,06
Shapiro p-value	0,0001	0,0001	0,0	0,0	0,0	0,0

Средний уровень гемоглобина составил 126,1±13,3 г/л. Медиана составила 122 г/л. Диапазон значений варьировал от 96 до 169 г/л. Эти данные укладываются в референсные значения для женщин репродуктивного возраста. Показатель отражает умеренную выраженность железодефицитных состояний, присутствующих в популяции. При этом размах в 73 г/л и невысокая стандартная ошибка среднего (1,32) свидетельствует о достаточно устойчивой оценке центральной тенденции.

Число эритроцитов в среднем составило $3,7\pm0,6x10^{12}$/л (медиана $3,8\times10^{12}$/л, диапазон $2,5\text{-}5,0\times10^{12}$/л), что также соответствует физиологическим значениям. Незначительная дисперсия показателя указывает на отсутствие выраженной анемии в группе. Выявленное отклонение распределение от

нормального ($p<0,001$) отражает скорее, влияние отдельных крайних значений, чем наличие системного процесса.

Гематокрит имеет среднее значение 38,1±3,5% (28-44%) с медианой 40%. это согласуется с данными по гемоглобину и эритроцитам и свидетельствует о сохраненной кислород-транспортной функции крови.

Тромбоцитарное звено характеризовалось средним количеством тромбоцитов 252,1±61,3×10^9/л, при довольно широком диапазоне 180-426×10^9/л. несмотря на наличие отдельных высоких значений, распределение остается в пределах нормальной популяционной вариабельности, признаков клинически значимой тромбоцитопении или тромбоцитоза не выявлено.

Лейкоциты находились на уровне 7,3±2,2х10^9/л (3,3-13,4×10^9/л). Медиана 7,0×10^9/л, что соответствует физиологическому интервалу и не указывает на наличие выраженной воспалительной или инфекционной патологии у большинства пациенток.

Скорость оседания эритроцитов в среднем составила 13,3±10,6 мм/ч, при медиане 10 мм/ч и разбросе от 2 до 60 мм/час. Выраженная вариабельность СОЭ характерна для женской популяции и отражает влияние функциональных факторов.

Согласно данным Таблицы 9, показатели коагулограммы также подтверждают сохраненный баланс системы гемостаза. В группе исследуемы х не удалось выявить резких отклонений показателей системы гемостаза, котрые могли бы влиять на риск привычного невынашивания беременности.

Таблица 9 – Показатели коагулограммы женщин с иПНБ

Показатель	АЧТВ, с	Тромбиновое время, с	Протромбиновое время, с	ПТИ, %	МНО	РФМК	Фибриноген
Среднее	31,8±3,0	14,2±2,9	19,2±28,7	92,6±18,7	1,0±0,1	5,0±1,0	2,8±0,6
Медиана	30,0	13,8	11,0	90,0	1,0	5,0	3,0
Мода	30,0	13,0	11,0	90,0	1,0	6,0	3,0
Минимум	27,9	10,0	1,0	1,02	0,78	3,0	1,5
Максимум	40,0	22,0	155,0	128,7	1,2	7,0	4,5
Размах	12,1	12,0	154,0	127,7	0,42	4,0	3,0
Коэффициент вариации, %	9,3	20,3	149,7	20,2	8,49	18,94	20,84
Стандартная ошибка среднего	0,29	0,29	2,86	1,86	0,01	0,09	0,06
Shapiro p-value	0,0	0,0002	0,0	0,0	0,01	0,005	0,01

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) имеет среднее значение 31,8±3,0 с, при медиане 30 с и диапазоне 27,9-40,0 с. Это укладывается в референсные пределы и указывает на отсутствие выраженных нарушений внутреннего пути свертывания. Тромбиновое время составило в среднем 14,2±2,9 с (10-22 с), медиана – 13,8 с, что также соответствует норме и не свидетельствует о клинически значимых нарушениях на уровне конечных этапов образования фибринового сгустка. Наблюдаемые отклонения распределения (p=0,0002 для тромбинового времени) также отражают наличие единичных экстремальных значений и не формируют самостоятельного патологического паттерна.

Наиболее выраженная вариабельность отмечена для протромбинового времени: среднее 19,2±28,7 при медиане 11 с. Медиана и мода соответствуют референсному интервалу, а протромбиновый индекс в среднем 92,6±18,7, медиана равна 90% дополнительно подтверждает сохранность внешнего пути коагуляции у большинства пациенток.

Международное нормализованное отношение (МНО) было стабильно и находилось в узких пределах, среднее 1,0±0,1, что исключает наличие выраженной гипо- и гиперкоагуляции, связанной с нарушением синтеза протромбинового комплекса. Уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в среднем составил 5,0±1,0 усл. ед. (3-7, медиана 5), что соответствует легкой приемлемой степени активации коагуляции, без признаков системной тромботической готовности.

Концентрация фибриногена была на уровне 2,8±0,6 г/л, медиана – 3,0 г/л, при диапазоне 1,5-4,5 г/л, что укладывается в референсные пределы и не указывает на гиперфибриногенемию.

В исследовании 2022 года показано, что в основной группе женщин с 2 потерями беременности наблюдается статистически значимое снижение (p=0,05) АЧТВ (26,62±3,56 с) и протромбинового времени (13,05±1,96 с). В контрольной группе показатели АЧТВ и протромбиновое время были выше и равны 29,86±3,84 и 13,94±1,56 соответственно. Кроме того отмечалось достоверное повышение фибриногена у женщин с ПНБ в среднем 3,86±0,56 г/л против 3,22±0,29 г/л в контрольной. Также авторы показали, что имеется повышение D-димера до 175,90±22,39 мкг/л у участниц проекта, а в группе контроля этот показатель равен 158,26±21,3 мкг/л [110].

Сопоставление полученных нами результатов и данных исследования позволяют сделать принципиально важный вывод: отклонения стандартных показателей характерно преимущественно для форм ПНБ с установленными нарушениями в системе гемостаза, тогда как при идиопатическом привычном невынашивании показатели коагулограммы существенно не меняются.

В совокупности показатели общего анализа крови и коагулограммы позволяют заключить, что обследованная группа пациенток не характеризуется выраженными гематологическими или коагуляционными нарушениями, которые могли бы рассматриваться как основной патогенетический фактор

привычного невынашивания. Это соответствует нашему предварительному отбору участников исследования и подтверждает критерии исключения.

Отсутствие стойких смещений в сторону гипер- и гипокоагуляции позволяет интепретировать лабораторный профиль как благополучный. Это в свою очередь усиливает аргументацию в пользу того, что ключевую роль в формировании привычных репродуктивных потерь у данной категории играют не грубые системные нарушения гемостаза, а возможно иммуннорегуляторные механизмы и геномные нарушения плода.

3.3 Результаты исследования абортного материала женщин с иПНБ методом хромосомного микроматричного анализа aCGH

Хромосомный микроматричный анализ относится к числу методов молекулярно-генетической диагностики, позволяющих выявлять несбалансированные геномные изменения с высоким уровнем разрешения.

Как видно из Таблицы 10, в 18 (95% ДИ: 11,6-26,8%) из 100 обследованных образцов были выявлены анеуплоидии и несбалансированные микроперестройки, тогда как в 82% случаев молекулярный кариотип оставался в пределах нормы.

Таблица 10 – Результаты хромосомного микроматричного анализа фетального материала при иПНБ

№ п/п	Код образца	Молекулярный кариотип	Результат
		Трисомии	
1	P-01-285-02	arr[1613.3p11.2(2171487_31486477)×3, 16q11.2q24.3(46721825_90119719)×3], [X, Y]×1	Трисомия 16 хромосомы
2	P-01-339-02	arr[8p23.1p11.1(1010099_43729308)×3], [X]×2	Частичная трисомия короткого плеча 8 хромосомы
3	P01-342-02	arr[1-21]×2, [22]×3, [X,Y]×1	Трисомия 22 хромосомы
4	P01-367-02	arr[1-21]×2, [22]×3, [X,Y]×1	Трисомия 22 хромосомы
		Моносомии	
5	P01-318-02	arr[1-22]×2, [X]×1	Моносомия X хромосомы
6	P01-347-02	arr[1-18]×2, [19]×1, [20-22]×2, [X]×1	Моносомия 19 и X хромосом
		Делеции	
7	P01-139-02	arr[4q22.3q23(98529092_99277189)×1], [X]×2	Микроделеция длинного плеча, захватывающая регион 4q22.3-q23 размерами 748 Кб

Продолжение таблицы 10

№ п/п	Код образца	Молекулярный кариотип	Результат
8	P01-160-02	arr[3p21.31(47156617_49628612)×1*10q11.22(46980161_47140243)×1, [X]×2	Делеция короткого плеча 3 хромосомы в локусе 3p21.31 размером 2,472 Мб
9	P-01-212-02	arr[6p21.32(32372591_32984607)×1], [X]×2	Микроделеция короткого плеча 6 хромосомы, регион 6p21.32 размером 612,02 Кб
10	P01-310-02	Arr[16p13.11(15049829_16287899)×1~2, [X]×2	Микроделеция короткого плеча 16 хромосомы в регионе 16p13.11 размером 1,24 Мб
11	P01-338-02	arr[15q11.2(25221183_25482862)×1], [X,Y]×1	Микроделеция 15 хромосомы в регионе 15q11.2 размером 0,262 Мб. Делеция в регионе синдрома Прадера-Вилли/Ангельмана
12	P01-346-02	arr[19p13.3(711118_3750217)×1], [X, Y]×1	Микроделеция 19 хромосомы в регионе 19p13.3 размером 3,039 Мб, ассоциированная с синдромом Peutz-Jeghers
13	P01-348-02	arr[21q22.3(43826675_46001597)×1, [X]×2	Микроделеция 21q22.3 размером 2,175 Мб, ассоциированная с синдромом Holoprosencephaly 1
14	P01-355-02	arr[20q13.33(60729727_62904501)×1, [X]×2	Микроделеция длинного плеча 20 хромосомы в регионе 20q13.33, размером 2,175 Мб, ассоциированная с синдромом доброкачественной неонатальной эпилепсии
15	P01-360-02	Arr[5p13.2(36827264_37361750)×1, [X]×2	Микроделеция в области 5p13.2, ассоциированная с синдромом Корнелии де Ланге размером 534 Кб
16	P01-371-02	arr[8q22.1q22.3(95433861_106076169)×1, [X]×2	Делеция длинного плеча 8 хромосомы в области 8q22.1 размером 10,6 Мб
Дупликации			
17	P01-166-02	arr[1p22.1(94056244_94422257)×1*Xp11.22(50264541_51436643)×3]6 [X]×2	Синдром микродупликации короткого плеча X хромосомы, Xp11.22-11.23, размер 1.172 Мб

Продолжение таблицы 10

№ п/п	Код образца	Молекулярный кариотип	Результат
Сочетанные CNV			
18	P01-343-02	arr[6q22.1q25.1(117160648_151865179)×3], [6q25.2q27(153885929_170901286)×1]	Дупликация 6q22.1-q25.1 размером 34,7 Мб и делеция 6q25.2-q27 размером 17 Мб

Такое соотношение характерно для пациенток с привычными, но клинически необъяснимыми потерями беременности. Отсутствие выраженных материнских факторов указывает на необходимость выявления геномных нарушений эмбриона. Уже на уровне первичного распределения становилось очевидно, что именно характер выявленных перестроек способен объяснить остановку развития на ранних сроках, поскольку большинство изменений затрагивали функционально значимые участки генома, критичные для раннего органогенеза.

Анеуплоидии в исследуемой группе выявлены у 6 (33,3%) из 18 патологических образцов. Анеуплоидии представляют собой числовое нарушение хромосомного набора, при котором количество хромосом отклоняется от нормального эуплоидного [111]. Такие изменения традиционно рассматриваются как одна из наиболее частых причин эмбриональной гибели на ранних сроках беременности. В исследуемой выборке структура анеуплоидий распределена следующим образом: в 4 образцах (66,7%) обнаружены аутосомные трисомии, а в 33,3% – моносомии.

Как представлено на Рисунке 13, частота выявленных трисомий в абортном материале составила 22,2%. Трисомии характеризуются наличием дополнительной копии одной из хромосом и, как следствие, избыточной экспрессией дозозависимых генов, что в свою очередь приводит к нарушению эмбриогенеза.



Рисунок 13 – Структура выявленных аномалий фетального материала

Аномалии представлены распространенными трисомиями 16 хромосомы, 22 хромосомы (2 случая) [111, 112] и протяженной дупликацией короткого плеча 8 хромосомы, установленной как частичная трисомия 8 хромосомы. Все три варианта являются причиной остановки развития эмбриона и представляют собой частые причины самопроизвольного прерывания беременности на ранних сроках.

Моносомии отражают утрату одной из хромосом пары и также сопровождаются нарушением баланса генетической информации. Частота выявленных моносомий составила 11,1%. Среди обнаруженных случаев один представлен классической моносомией хромосомы X, известной как синдром Тернера. Данный синдром в большинстве случаев приводит к прерыванию беременности до 12 недель [112, 113]. Второй вариант представлен комбинированной моносомией 19 хромосомы и X хромосомы. Даже изолированные моносомии относятся к числу наиболее неблагоприятных числовых аномалий, которые сопровождаются выраженным дефицитом дозы генов. Множественные аномалии, включающие две и более моносомии либо сочетание моносомии с другими аномалиями, усугубляют эффект гаплонедостаточности [114].

Важно отметить, что даже при успешном выполнении FISH, большинство из этих анеуплоидий не были бы обнаружены. Это связано с тем, что исследование проводится с использование зондов на 13, 18, 21, X и Y хромосом. Исследование позволило бы выявить две аномалии, а именно, моносомии X, одна из которых была бы интерпретирована неверно в связи с отсутствием зондов на 19 хромосому. Несмотря на то, что трисомии 13, 18, 21 и аномалии половых хромосом являются одними из наиболее частых врожденных пороков

в постнатальным периоде, они часто пролонгируются и в большинстве встречаются среди живорожденных [112].

Наиболее распространенными аномалиями, выявленными в результате хромосомного микроматричного анализа, являются делеции различных хромосом. Утрата участка хромосомы выявлена в 55,6% случаев структурных патологий. Данные аномалии представлены как протяженными делециями, так и микрополомками за границей разрешения стандартных генетических исследований. Среди них отмечены делеции областей, ассоцированные с известными фенотипами, в том числе синдромы Прадера-Вилли/Ангельмана (15q11.2), Peutz-Jeghers (19p13.3), Корнелии де Ланге (5p13.2) и Holoprosencephaly-1 (21q22.3).

Беременности с микроделеционными синдромами также в большинстве случаев пролонгируются и реализуются живорождением. Так, делеция 15q11.2, лежащая в основе синдромов Прадера-Вилли и Ангельмана, встречаются в среднем с частотой 1:15000-1:30000. Данные синдромы различаются по клиническому фенотипу в зависимости от родительского происхождения пораженного аллеля. Синдром Прадера-Вилли характеризуется выраженной неонатальной гипотонией, эндокринной дисфункцией, гипогонадизмом и последующим развитием гиперфагии и ожирением [115]. В то же время, синдром Ангельмана сопровождается тяжелой задержкой развития, резким ограничением экспрессивной речи, судорожным синдромом, а также немотивированным смехом, стереотипными движениями, так называемым фенотипом «счастливой куклы» [116]. Следует подчеркнуть, что рамках используемого чипа определяется лишь участок утраты, его границы и гены в данном локусе. Происхождение однородительской дисомии данным методом не устанавливается.

Делеция 5p13, ассоциированная с синдромом Корнелии де Ланге, встречается с частотой 1:10000-1:30000. Данная патология характеризуется сочетанием типичных дисморфичных стигм (синофриз, длинные изогнутые ресницы, вывернутые ноздри, тонкая верхняя губа и др.), умственной отсталости, низкого роста и пороков развития [117]. Еще одним выявленным синдромом является голопрозэнцефалия 1 (HPE1) – тяжелая форма патологии, при котором нарушается нормальное разделение переднего мозга на два симметричных полушария в эмбриогенезе, что приводит к тяжелым краниофациальным аномалиям, включая циклопию, расщелинам губы и неба, отсутствию носа и тяжелым неврологическим нарушениям, несовместимым с продолжительной жизнью. Значительная часть патологии прерывается во внутриутробном периоде [118]. Синдром Peutz-Jeghers (19p13.3) характеризуется гамартоматозными полипами ЖКТ и меланоцитарной пигментацией кожи и слизистых оболочек. Частота встречаемости 1:50000-1:200000 [119].

Хотя микроделеции ассоциированы с живорожденностью и не являются критичными для эмбрионального периода, их клиническое значение определяется размером перестройки и утратой ключевых генов развития [120].

Частота дупликаций была ниже и составила 5,6%. Эти изменения характеризуются удвоением определенного участка хромосомы. Выявленная поломка размером 1.172 Мб ассоциирована с синдромом дупликации Xp11.22-11.23. Другая поломка представляет собой сложную хромосомную перестройку, представленную дупликацией 6q22.1-q25.1 размером 34,7 Мб и делецией 6q25.2-q27 размером 17 Мб.

Синдром дупликации Xp11.22-11.23 представляет собой редкую Х-сцепленную хромосомную аномалию. Данная патология характеризуется задержкой речевого и моторного развития, поведенческими расстройствами (включая аутистические черты и гиперактивность) и различными дисморфическими чертами лица. Частота данного синдрома неизвестна [121].

В постнатальном периоде не описано случаев сочетания дупликации 6q22.1-q25.1 и делеции 6q25.2-q27. Размеры выявленной аномалии и сложность данной перестройки позволяют предположить связь с летальностью в раннем эмбриональном периоде.

В ходе анализа результатов было установлено, что наиболее частыми патологиями в исследуемой выборке были делеции (55,6%) на втором месте – аутосомные трисомии (22,2%). Дупликации и сочетанные CNV представлены единичными случаями (по 5,6%), а моносомии представлены в 11,1%.

Сравнительный анализ с другими работами показывает, что структура нарушений имеет отличительные черты. Так, в работе Shen et al. (2016) хромосомные аномалии выявлены в 51,6% абортного материала. Наиболее часто выявлялись анеуплоидии (41,3%), что в 1,2 раза выше, чем в наших результатах. Напротив, выявление CNV составило 5,3%, что в 12,5 раз ниже наших результатов [122].

В другом исследовании установлено, что успешность ХМА равна 92%, в нашем исследовании информативность равна 100%. Патологии выявлены в 57,59%. В основном они представлены анеуплоидиями (63,6), что в 1,9 раз выше результатов исследования. Патологические CNV обнаруживались в 5,7%, что многократно ниже полученных нами результатов [123].

3.3.1 Анализ выявленных трисомий в структуре хромосомных нарушений

В ходе хромосомного анализа абортного материала в исследуемой выборке были выявлены числовые и сегментарные хромосомные нарушения, представленные трисомией 16, 22 хромосомы и частичной трисомией короткого плеча 8 хромосомы.

Аутосомные трисомии относятся к наиболее частым хромосомным нарушениям, выявляемым в абортном материале при привычном невынашивании. По данным молекулярно-генетических исследований фетального материала, анеуплоидии выявляются в значительной доле ранних репродуктивных потерь [124-127]. В отличие от трисомий 13, 18 и 21, для которых возможна постнатальная выживаемость, большинство аутосомных трисомий рассматриваются как эмбрионально летальные.

В абортусе Р-01-285-02 выявлена трисомия 16 хромосомы, представленная на Рисунке 14.

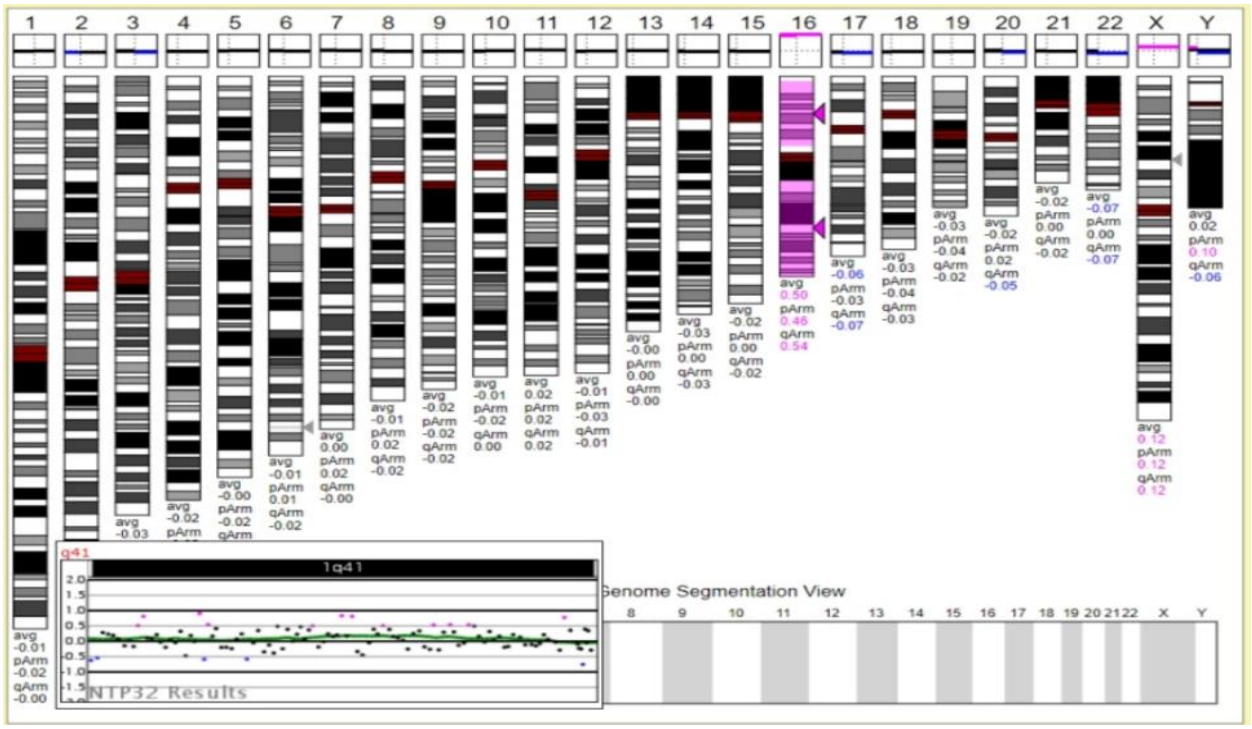


Рисунок 14 – Трисомия 16 хромосомы (Р-01-285-02)

Данная патология является наиболее частой выявляемой аномалией при невынашивании беременности. По данным исследований фетального материала на ее долю приходится 15-30% всех анеуплоидий [124, 127]. В популяции простая форма трисомии 16 практически не встречается.

Распределение по срокам гестации указывает на выраженную раннюю эмбриональную летальность. В большинстве исследований показано, что трисомия 16 хромосомы выявляется преимущественно до 12 недель беременности, тогда как обнаружение на поздних сроках является редким [125]

Данные о мозаичных формах подтверждают критическое значение полной анеуплоидии для жизнеспособности эмбриона. В случаях мозаицизма возможно пролонгирование беременности, однако она часто сопровождается задержкой внутриутробного роста, гестационной гипертензией, преэклампсией и другими осложнениями. В постнатальном периоде данная аномалия проявлялась расщелинами губы и неба и различными пороками сердечно-сосудистой системы, ЖКТ, а также костно-суставной системы. Также отмечен высокий уровень младенческой смертности (2-33%) [127].

Другая распространенная трисомия 22 хромосомы (Рисунок 15) была выявлена в 2 образцах абортного материала (Р01-342-02 и Р01-367-02). По данным литературы, трисомия 22 относится к числу типичных анеуплоидий при ранних репродуктивных потерях и занимает третье место после трисомий 16 и 21 хромосом.



Рисунок 15 – Трисомия 22 хромосомы

Согласно клиническим исследованиям, доля этой патологии среди хромосомных аномалий при ранних репродуктивных потерях составляет около 11-16 %, причем большинство из них выявляются в 1 триместре [128].

При анализе ранних репродуктивных потерь при трисомии 22 хромосомы особое внимание привлекают данные ультразвукового исследования. В ряде работ показано, что для данной анеуплоидии характерно увеличение желточного мешка, выявляемое до остановки развития эмбриона. Повышенная частота аномалий желточного мешка также отмечается при других хромосомных анеуплоидиях и ассоциируется с неблагоприятным исходом беременности [129, 130].

Предполагается, что ведущую роль в патогенезе трисомии 22 играет нарушение ранних этапов эмбрионального развития и формирования плаценты. Желточный мешок участвует в раннем кроветворении, обменных процессах и формировании первичных сосудистых связей. Его аномальное развитие отражает несостоятельность этих процессов [129].

Дополнительным фактором, объясняющим различия между полной и мозаичной формами трисомии 22 хромосомы, считается селективное выбывание анеуплоидных клеток. Показано, что клетки-предшественники костного мозга и другие активно делящиеся мезодермальные клетки проявляют низкую толерантность на наличие дополнительной хромосомы. Это приводит к тому, что в результате часть трисомных клеток элиминируются. Это объясняет как редкость простых форм трисомии 22, так и диагностические сложности при выявлении мозаичных форм [130].

Среди анеуплоидий, совместимых с жизнью, мозаицизм трисомии 22 хромосомы встречается крайне редко. В настоящее время описано всего около 11 пренатальных и 25 постнатальных случаев. Клинические проявления

изучены на примере мозаичных случаев. Наиболее часто описываются задержка внутриутробного роста, врожденные пороки сердца, аномалии ЦНС, почек и конечностей, а также характерные дисморфичные черты лица. Тяжесть фенотипа при этом не всегда коррелирует с уровнем мозаицизма, определенным в одной ткани и указывает на неравномерное распределение анеуплоидных клеток [131].

В случае P-01-339-02 выявлена аномалия с молекулярным кариотипом arr[8p23.1p11.1(10100995_43729308)×3], [X]×2 и интерпретирована как частичная трисомия короткого плеча 8 хромосомы.

Данная аномалия относится к редким сегментарным хромосомным дисбалансам и выявляется преимущественно при ранних репродуктивных потерях [132-134]. Клиническое значение определяется протяженностью дуплицированного участка и составом вовлеченных генов, многие из которых участвуют в раннем эмбриональном развитии и органогенезе [135, 136].

Наиболее часто в описанных случаях (Рисунок 16) вовлекаются регионы 8p23.1-p22, содержащие ряд дозочувствительных генов. Ключевым из них является GATA4 (OMIM 600576). Этот ген играет важную роль в формировании сердечной трубки и развитии миокарда [134]. Мутации гены GATA4 ассоциировано с врожденными пороками сердца. Это позволяет рассматривать его как один из факторов неблагоприятного эмбрионального исхода при сегментарных дупликациях 8p [132, 137]. В этом же регионе локализуется ген SOX7. Он участвует в регуляции ангиогенеза и формирования эндотелия. TNKS я вляет фактором клеточной пролиферации и сигнальных путей, критически важных для раннего эмбриогенеза [135, 136].

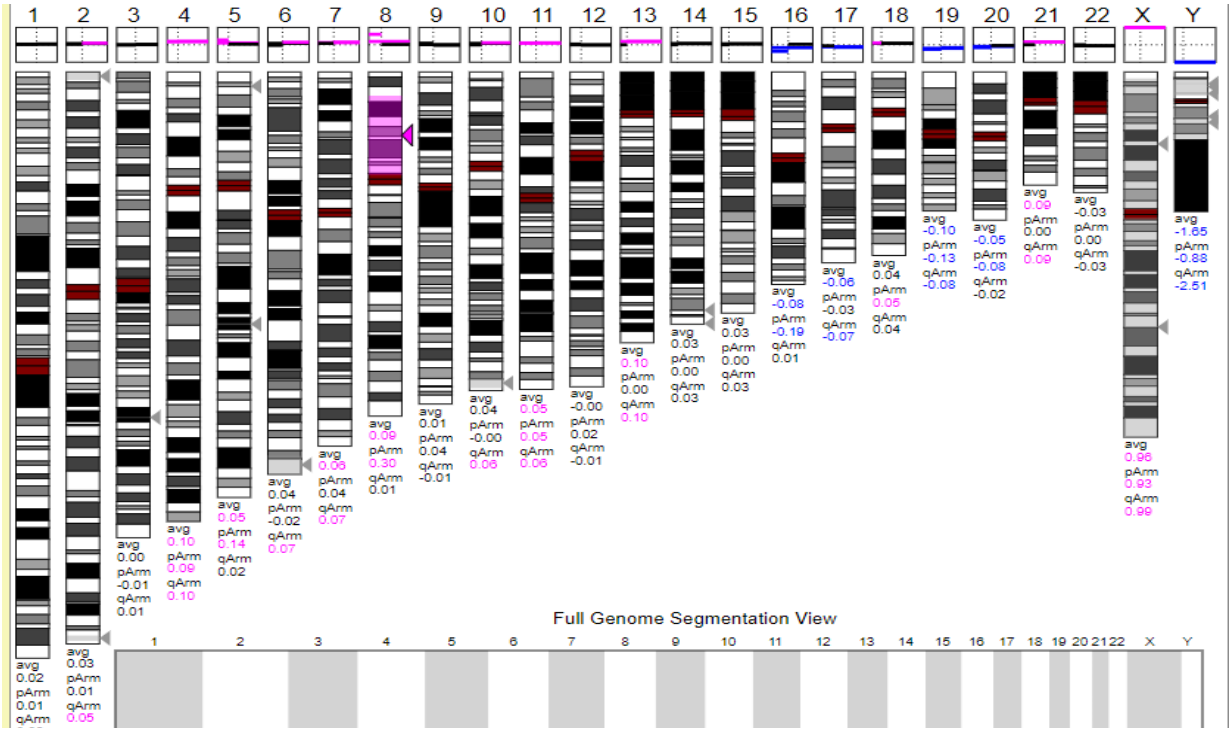


Рисунок 16 – Частичная трисомия короткого плеча 8 хромосомы

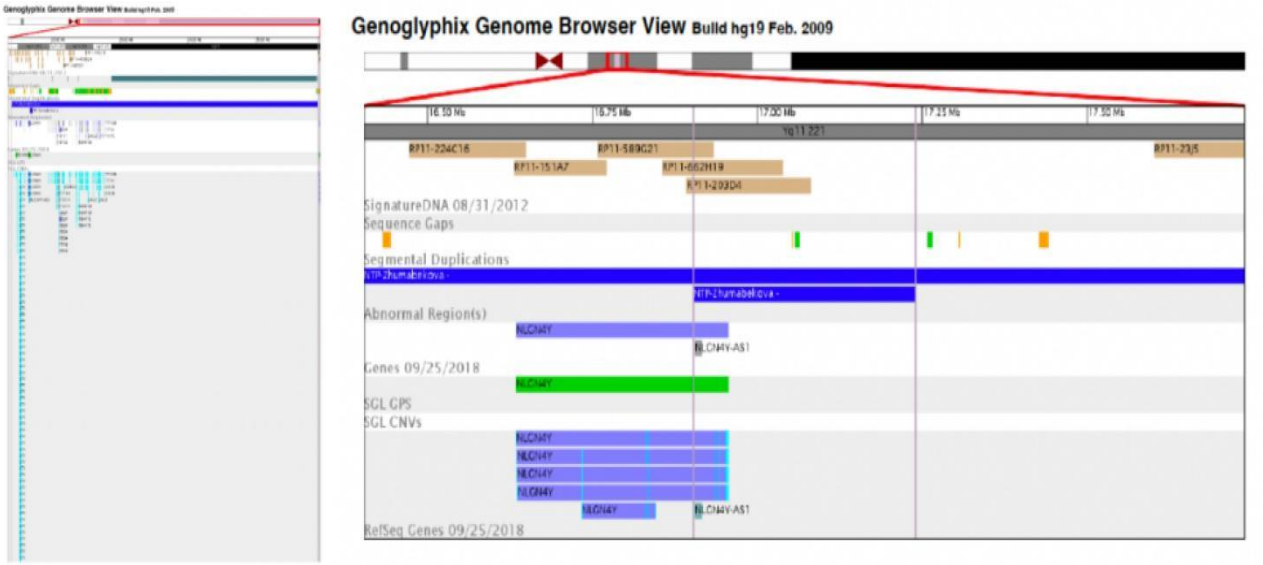
При проксимальных дупликациях 8p, вовлекаются гены DLGAP2 (OMIM 605438) и CSMD1 (608397), экспрессирующиеся в тканях нервной системы [136]. Их избыточная экспрессия рассматривается как фактор риска нарушений формирования центральной нервной системы, что согласуется с описанными в литературе пороками головного мозга и задержкой развития при пролонгировании беременности [132, 134]. Кроме того, регион 8p содержит гены, участвующие в регуляции клеточной адгезии и миграции, что имеет значение для ранних этапов морфогенеза [135].

В работах, посвященных анализов абортного материала и пренатального периода, подчеркивается, что именно дозозависимый эффект генов регионов 8p определяет тяжесть фенотипа [132-134]. Даже при отсутствии полной трисомии увеличение копийности отдельных участков короткого плеча 8 хромосомы может приводить к глубокой дезорганизации эмбрионального развития.

3.3.2 Влияние моносомий на раннее развитие эмбриона

Моносомии относятся к наиболее неблагоприятным вариантам числовых хромосомных аномалий при анализе фетального материала. По данным исследований моносомии в совокупности составляют 8-16% всех хромосомных аномалий, ассоциированных с ранней потерей беременности. Наиболее часто втсречается моносомия X, тогда как аутосомные моносомии и комбинированные формы выявляются только в абортном материале [137]. Неблагоприятный прогноз при моносомиях связан с потерей одной копии хромосомы, что приводит к утрате большого числа генов [138].

Моносомия X, выявленная в образце P01-318-02 (Рисунок 17) относится к числу наиболее частых анеуплоидий диагностируемых при ранних самопроизвольных потерях беременности. По данным крупных исследований, ее доля составляет 7-10% при анализе абортусов. В частности в работе Bastos et al. (2014) моносомия была выявлена в 8,3% случаев всех числовых хромосомных нарушений [139].



Продолжение рисунка 17

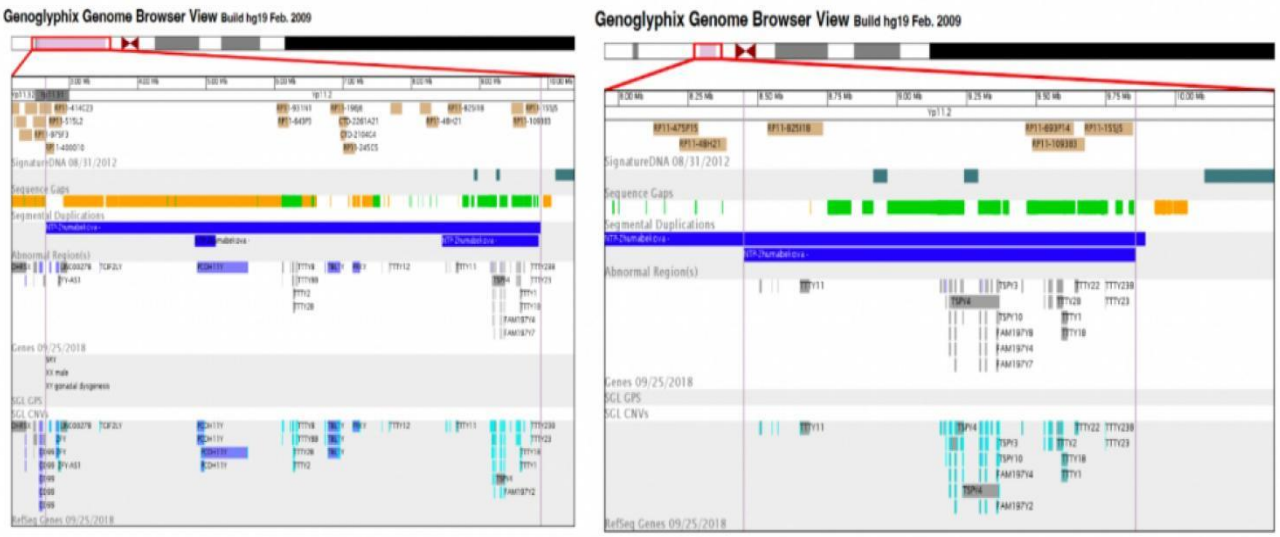


Рисунок 17 – Моносомия X

Систематические обзоры показывают, что моносомия X нередко связана с возрастом матери. В основе патологии часто лежит постзиготическая утрата X хромосомы, происходящая на ранних стадиях дробления зиготы. Это анеуплоидий и объясняет высокую частоту мозаичных форм в эмбриональных тканях [140].

Наблюдения, обобщенные в обзоре Hardy&Hardy (2015) подтверждают, что моносомия X занимает одно из ведущих мест среди анеуплоидий, выявляемых в первом триместре. Крайне высокая эмбриональная летальность проявляется тем, что подавляющее большинство абортусов с кариотипом 45,X погибает до 10-12 недель гестации. Лишь небольшая доля беременностей достигает срока родов. Основной механизм ранней гибели связывают с нарушением плаценты, в том числе трофобласта, ремоделирования спиральных артерий и формирования фетоплацентарной циркуляции [141].

В исследовании Grande и соавт. (2019) исследовали происхождение елинственной X хромосомы. Среди продолжающихся беременностей в большинстве установлено материнское происхождение. Тогда как среди спонтанных потерь распределение материнских и отцовских X хромосом было одинаковым. Эти наблюдения указывают на селективную гибель эмбрионов [142].

Работа Hook и Warbuton (2014) показала, что большинство жизнеспособных моносомии X связаны с мозаичными формами. Даже небольшой клон 46,XX обеспечивает уровень экспрессии генов, необходимых для развития плаценты [143].

В патогенезе моносомии X рассматривают гаплонедостаточность псевдоаутосомных регионов (PAR1 и PAR2). Эти регионы содержат гены, не подвергающиеся инактивации X хромосомы В нормеони экспрессируются в обеих копиях хромосомы. Дефицит генов PAR приводит к нарушению включая

ангиогенеза, формирования внеклеточного матрикса, пролиферации и миграции клеток трофобласт. Авторы рассматривали их как основной механизм прерывания беременности при моносомии X [140, 141, 144].

В фетальном материале P01-347-0 выявлена комбинированная моносомия 19 и X хромосом. Отсутствий копий двух хромосом относится к категории тяжелых геномных дисбалансов. Комбинированные моносомии не встречаются у живорожденных и рассматриваются как однозначный маркер летальности [145-147].

По данным крупных исследований причин невынашивания, множественные анеуплоидии обнаруживаются преимущественно в материалах ранних потерь. В работе Reddy et al. (1997), включавшем 3034 самопроизвольных выкидыша, такие случаи выявлены только в единичных наблюдениях и все они прерывались до 11 недель [145].

Похожие результаты приведены в исследовании 403 абортусов первого триместра. Комбинированная хромосомная патология выявлена всегов двух образцах фетального материала [146]. Другое исследование выявило, что доля двойных и множественных аномалий составляет около 4-5% среди абортусов с хромосомной патологией [147]. Комплексный обзор (2015) 457 случаев раннего прерывания беременности показал, что множественные анеуплоидии встречаются исключительно в ранние сроки в связи с выраженным дисбалансом копийности [148].

Наличие даже одной изолированной моносомии 19 хромосомы рассматривается как самостоятельный фактор невынашивания. Отсутствие аутосомных моносомий, таких ка на Рисунке 18, у живорожденных доказывает, что утрата целой копии приводит к нарушению множества критических программ клеточного роста, транскрипционной регуляции и энергетического метаболизма.

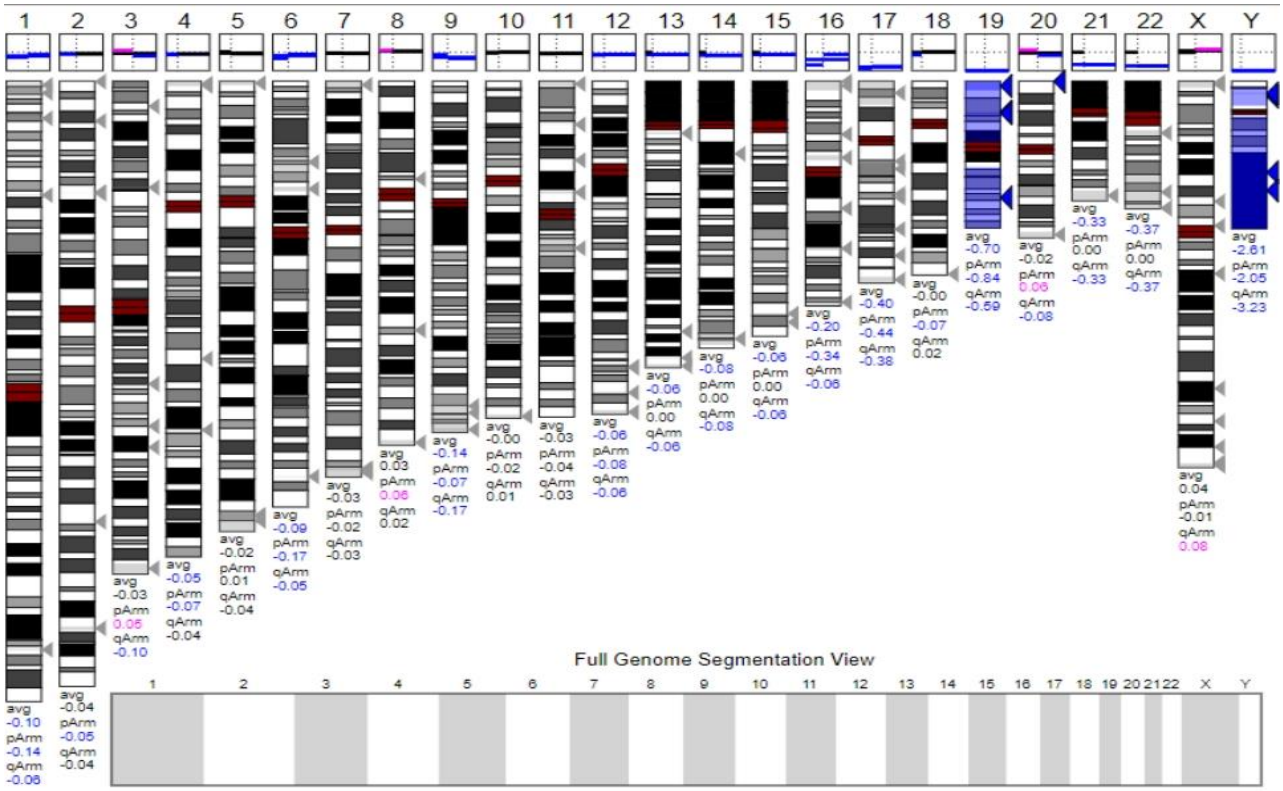


Рисунок 18 – Комбинированная моносомия 19 и X хромосомы

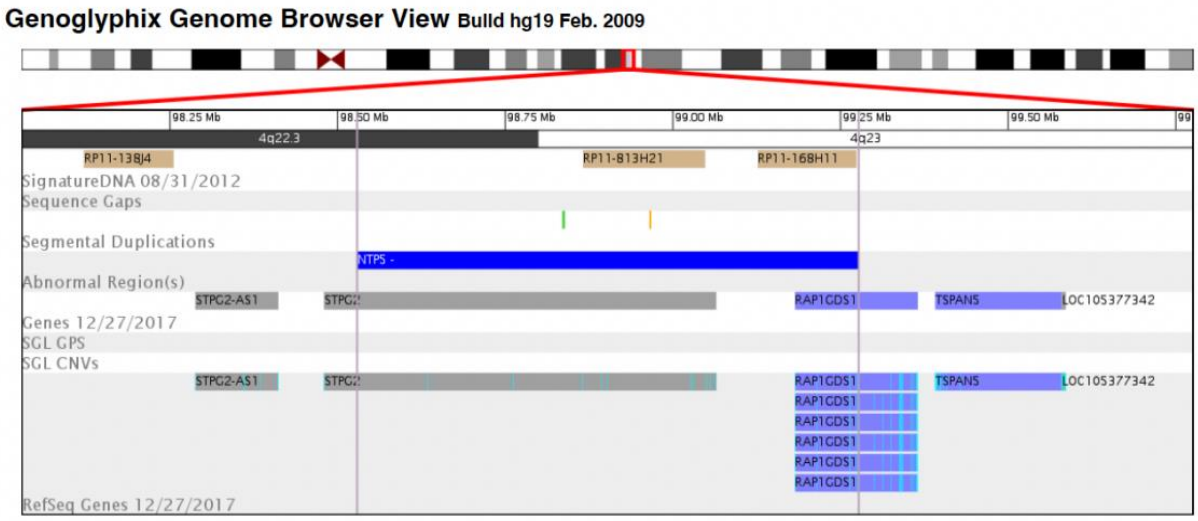
В обзоре Hassold и соавт. (2001) показано, что большинство таких эмбрионов погибают до имплантации или в раннем эмбриональном периоде [124]. Аналогичный вывод представлен в исследованиях, где подчеркивается, что моносомии аутосом вызывает глобальный транскрипционный дисбаланс, несовместимый с гаструляцией и формированием основных эмбриональных осей [149, 150].

Таким образом, моносомии следует рассматривать не просто как изменение числа хромосом, а как критическое нарушение равновесия генов, однозначно способствующее потере беременности.

3.3.3 Роль делеций в патогенезе невынашивания беременности

В результате проведенного нами исследования было выявлено, что значительную долю патологий занимают делеции (55,6%). Наиболее тяжелые клинические последствия связаны с протяженными CNV, однако немалую роль играет потеря участков критически важных генов эмбрионального развития [120, 150].

Одним из таких CNV является микроделеция 4q22.3-q23 с молекулярным кариотипом arr[4q22.3q23(98529092_99277189)×1], [X]×2. В пределах данной аномалии локализуются гены RAP1GDS1 и STPG2 (Рисунок 19). Интерстициальные делеции проксимального сегмента 4q неоднократно описаны в клинических сериях и рассматриваются как патогенные. В классической работе Nowaczyk и соавт. (1996) представлены пациенты с делецией длинного плеча 4 хромосомы, на основании которого выделен синдром 4q21-4q22. Данный синдром характеризуется задержкой роста, нарушением психомоторного развития и различными стигмами и ВПР [151].



Abnormality Details

Genome Build	UCSC 2009 hg19 assembly
Copy Number	Copy Loss
Chromosome Band	4q22.3-q23
Genomic Coordinates	chr4:98529092-99277189
Estimated Minimum Size	748.10 kb
Estimated Maximum Size	970.61 kb
Number of Probes	9
Avg Value	-0.839
StartGap	95.50 kb Cen
EndGap	127.02 kb Tel
Note Text	254868712432_2_3_IntervalBasedReport.xls

Рисунок 19 – Микроделеция 4q22.3-q23

Ключевым геном в пределах микроделеции является RAP1GDS1 (OMIM 179502)), кодирующий регуляторные GTP-связывающие белки. Данные белки участвуют в регуляции клеток пролиферации, миграции, адгезии и организации цитоскелета. В работе Asiri и соавт. (2020) показано, что патогенные варианты данного гена ассоциированы с выраженными нарушениями психомоторного развития, мышечной гипотонией и дисморфией [152]. В крупном когортном исследовании RAP1GDS1 также отнесен к генам, достоверно связанным с нарушениями развития нервной системы, что позволяет его рассматривать как

дозочувствительный ген, в котором утрата одной копии имеет выраженные клинические последствия [153].

Еще одной важной поломкой выявленной в результате ХМА фетального материала является микроделеция в локусе 3p21.31. У абортуса P01-160-02, представленного на Рисунке 20, обнаружена утрата локуса короткого плеча 3 хромосомы размером 2,472 Мб. Данный участок относится к функционально насыщенным регионам 3 хромосомы. Согласно OMIM, в пределах делетированного сегмента локализуется не менее 49 генов.

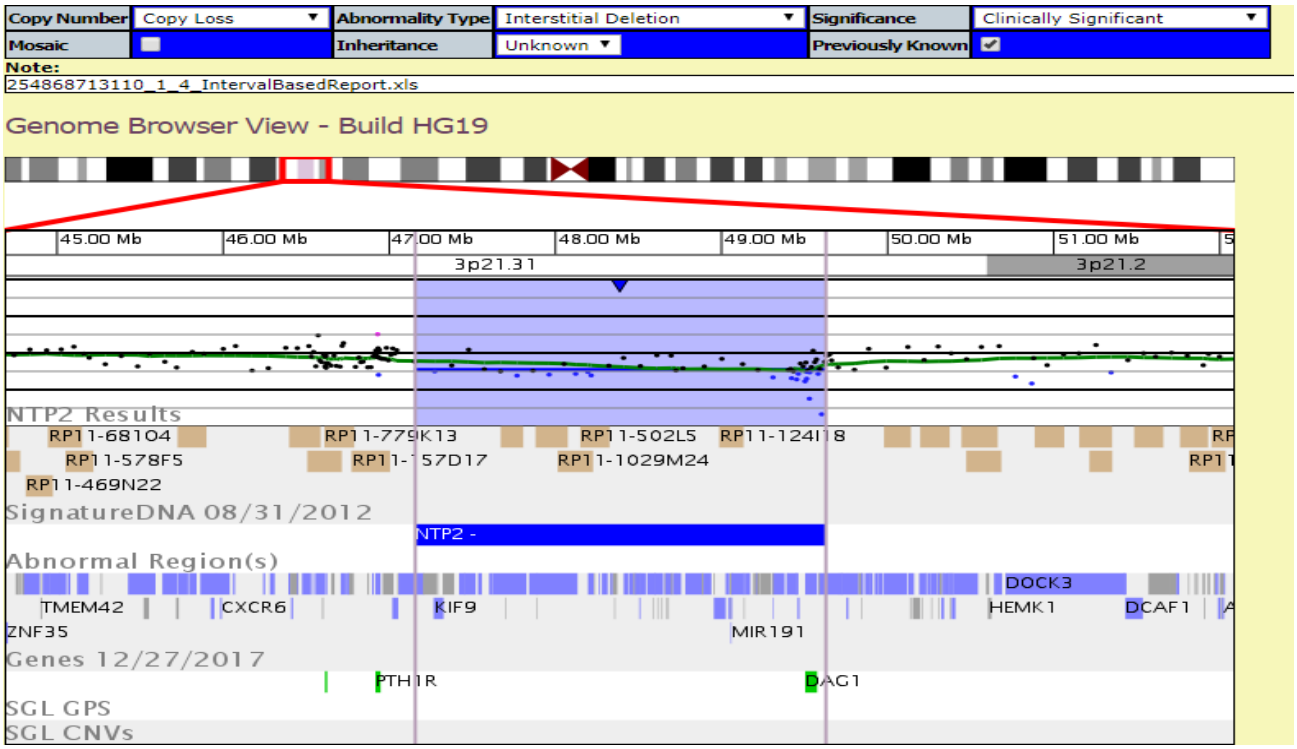


Рисунок 20 – Микроделеция 3p21.31

В состав сегмента входят гены CDC25A (OMIM 116947), ATRIP (OMIM 606605) и TREX1 (OMIM 606609), участвующие в контроле клеточного цикла и репарации ДНК, компоненты хроматин-ремоделирующих циклов и репарации ДНК (SMARCC1, DHX30) и множество других генов, ассоциированных с хроматин-ремоделирующими комплексами, а также структурные и адгезивные молекулы. Эти структуры играют важную роль в формировании тканей межклеточных контактов [154, 155]. Совокупная утрата такого набора генов, вовлеченных в базовые процессы раннего эмбриогенеза, отражает дисбаланс, связанный с нарушением нормального развития.

Особое значение в пределах данной микроделеции имеет ген SETD2 (OMIM 612778). Данный ген кодирует гистон-метилтрансферазу, играющую ключевую роль в регуляции транскрипции, альтернативного сплайсинга и поддержании геномной стабильности. Клинически у новорожденных поломка денного гена проявляется синдромом Luscan-Lumish (OMIM 616831).

Клинически данный синдром проявляется макроцефалией, избыточным ростом в раннем детстве, когнитивными и поведенческими нарушениями [155-157].

Пренатальные данные также подтверждают клиническую значимость утраты в области короткого плеча 3 хромосомы. В работе Wu и соавт. (2021) показано, что субмикроскопические делеции, включая делецию 3p21, встречаются достоверно чаще в абортивном материале в сравнении с контрольной выборкой [96]. В совокупности локализация делеции, ее размер и состав генов позволяет интепретировать выявленную микроделецию как патогенную CNV, ассоциированную с неблагоприятным исходом.

В абортном материале P-01-212-02 выявлена микроделеция 6p21.32 с молекулярным кариотипом arr[6p21.32(32372591_32984607)×1], [X]×2 (Рисунок 21).

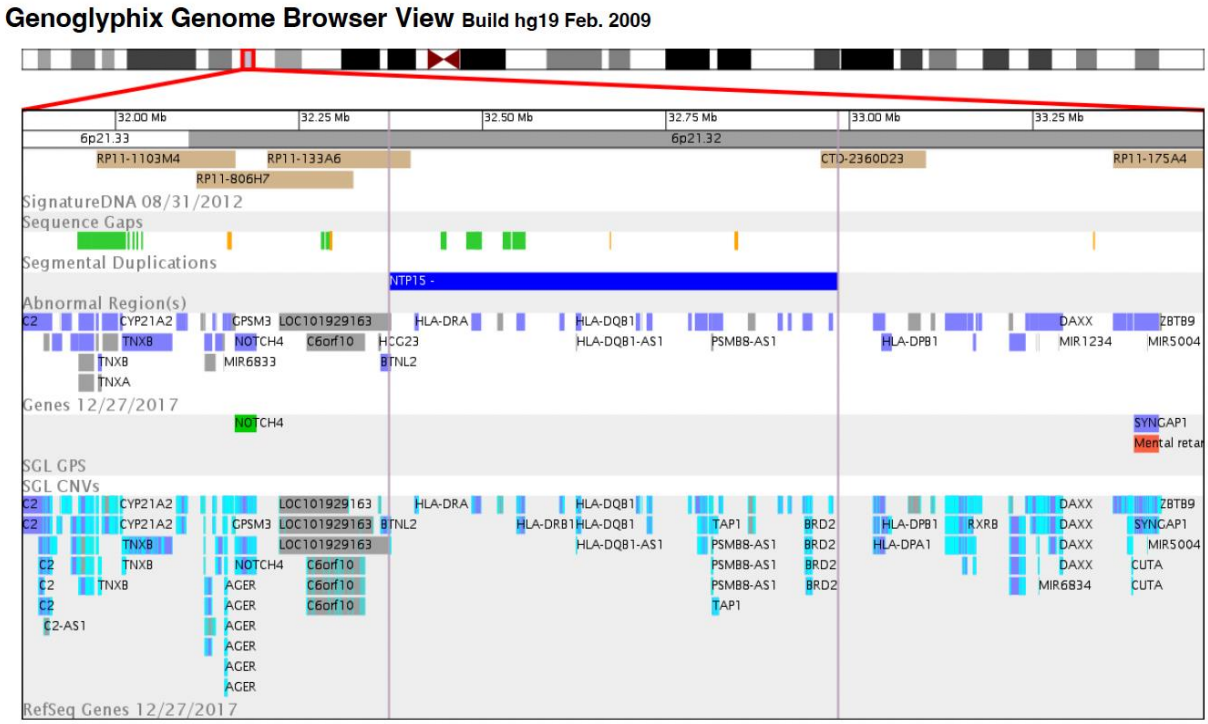


Рисунок 21 – Микроделеция 6p21.32

Клиническая значимость нарушений в регионе 6p21.32 подтверждается рядом исследований, выполненных с применением ХМА абортного материала. В исследовании показано выявление данного варианта у абортусов, что указывает на вовлеченность данного варианта в патогенез невынашивания беременности [158]. Аналогичные данные представлены в работе Sestari et al. (2022), где изменения копийности в регионе 6p21.32 были выявлены в двух образцах фетального материала [159].

Было показано, что локус генов HLA в регионе демонстрировал изменения копийности примерно в половине проанализированных случаев. Авторы другого исследования связывают такие перестройки с нарушением иммунного взаимодействия между эмбрионом и организмом матери, при

котором активация материнских иммунных клеток может приводить к повреждению развивающегося эмбриона [160].

Еще одна значимая микроделеция 16p13.11 выявлена у плода P01-310-02 (Рисунок 22) размером 1,24 Мб. Данный локус является одним из частых CNV, выявляемых как в постнатальной, так и в пренатальной практике. В литературе показано, что данная делеция ассоциирована с широким спектром клинических проявлений, включая задержку психомоторного развития, эпилепсию, пороки и неблагоприятные исходы беременности [161-163].

В крупных когортных исследованиях показано, что CNV 16p13.11 выявляется в 0,1-0,3% случаев невынашивания беременности.

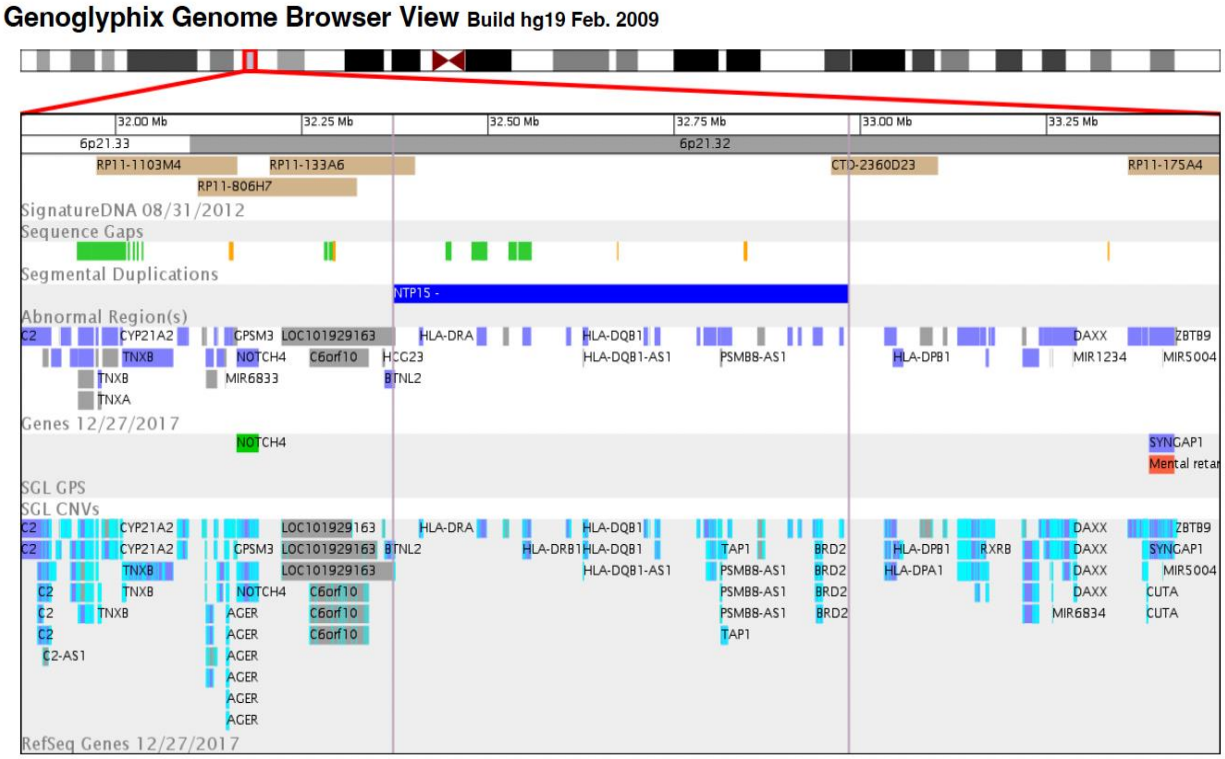


Рисунок 22 – Микроделеция 16p13.11

Патогенетическую значимость выявленной делеции определяет протяженность и вовлечение сразу нескольких дозочувствительных генов. Нарушение копийности в регионе 16p13.11 приводит к дисбалансу экспрессии генов, участвующих нейрональной миграции, синаптогенезе и межклеточных взаимодействиях, что критично для тканей с высокой профилеративной активностью. В пренатальных сериях показано, что CNV данного региона ассоциированы с различными ультразвуковыми находками, такими как задержка внутриутробного развития, структурные аномалии сердца и изменения со стороны ЦНС, а также повышенным риском неблагоприятного исхода беременности [162, 163].

У абортуса выявлена микроделеция в области 15q11.2 размером 0,262 Мб, локализованная в пределах критического импритингового домена 15q11-q13 (Рисунок 23). Данный регион является ключевым для синдромов Прадера-

Вилли/Ангельмана. Даже ограниченные по протяженности перестройки в участке рассматриваются как клинически значимые ввиду нарушения импритингового контроля [164, 165].

Делеция охватывает функционально насыщенный сегмент мегатранскрипта SHNG14 (OMIM 616084), инициируемого отцовским промотором SNRPN (OMIM182279), и включает ряд ключевых элементов, таких как IPW (OMIM 616225), PWAR1/PWAR5 и кластер малых ядрышковых РНК SNORD116 (OMIM 616257) SNORD115 (OMIM 616258). Согласно данным OMIM и клинико-генетическим исследованиям, именно кластер SNORD116 рассматривается как минимально достаточный критический регион, утрата которого при делеции отцовского аллеля формирует фенотип Прадера-Вилли, даже при сохраненности других участков 15q11-q13 [164].



Рисунок 23 – Микроделеция 15q12

Мегатранскрипт SHNG14/SNRPN, обеспечивает экспрессию протяженного каскада некодирующих РНК, участвующих в эпигенетической организации хроматина и регуляции транскрипционных программ, прежде всего гипоталамических структурах. Нарушение данного домена приводит к полной утрате отцовских некодирующих транскриптов формирует выраженный импритинговый дисбаланс [165].

Следует подчеркнуть, что импритинговые домены, включая 15q11-q13 относятся к числу регионов, особенно уязвимых в эмбриональном периоде. В исследованиях, посвященных анализу CNV в материале спонтанных абортов

показывают, что перестройки в регуляторных кластерах РНК и импритинг-центрах выявляются достоверно чаще у абортусов и рассматриваются как факторы, ассоциированные с эмбриональной нежизнеспособностью [166]. Отмечается, что нарушения дозозависимой эпигенетической регуляции на ранних этапах могут приводить к остановке эмбриогенеза.

Как показано на Рисунке 24, при молекулярно-генетическом исследовании абортуса P01-346-02 выявлена микроделеция 19p13.3 с молекулярным кариотипом arr[19p13.3(711118_3750217)×1], [X, Y]×1. Данный сегмент относится к функционально насыщенным и включает более 80 генов, аннотированных в базе OMIM.

Ключевым геном данного региона является STK11 (LKB1) (OMIM 602216), гаплонедостаточность которого лежит в основе синдрома Peutz-Jeghers (OMIM 175200). Установлено, что синдром развивается при функции одного аллеля данного гена вследствие точковой мутации или структурных перестроек, включая микроделеции [167, 168]. В клинических сериях показано, что делеционные варианты STK11 ассоциированы с более ранним дебютом и более тяжелым течением, что указывает на выраженную дозочувствительность данного гена [167]. Современные исследования показывают, что функция данного гена включает регуляцию клеточной полярности, энергетического метаболизма, миграции клеток, апоптоза и сосудистого морфогенеза, что отражает его фундаментальную роль в раннем развитии [168].

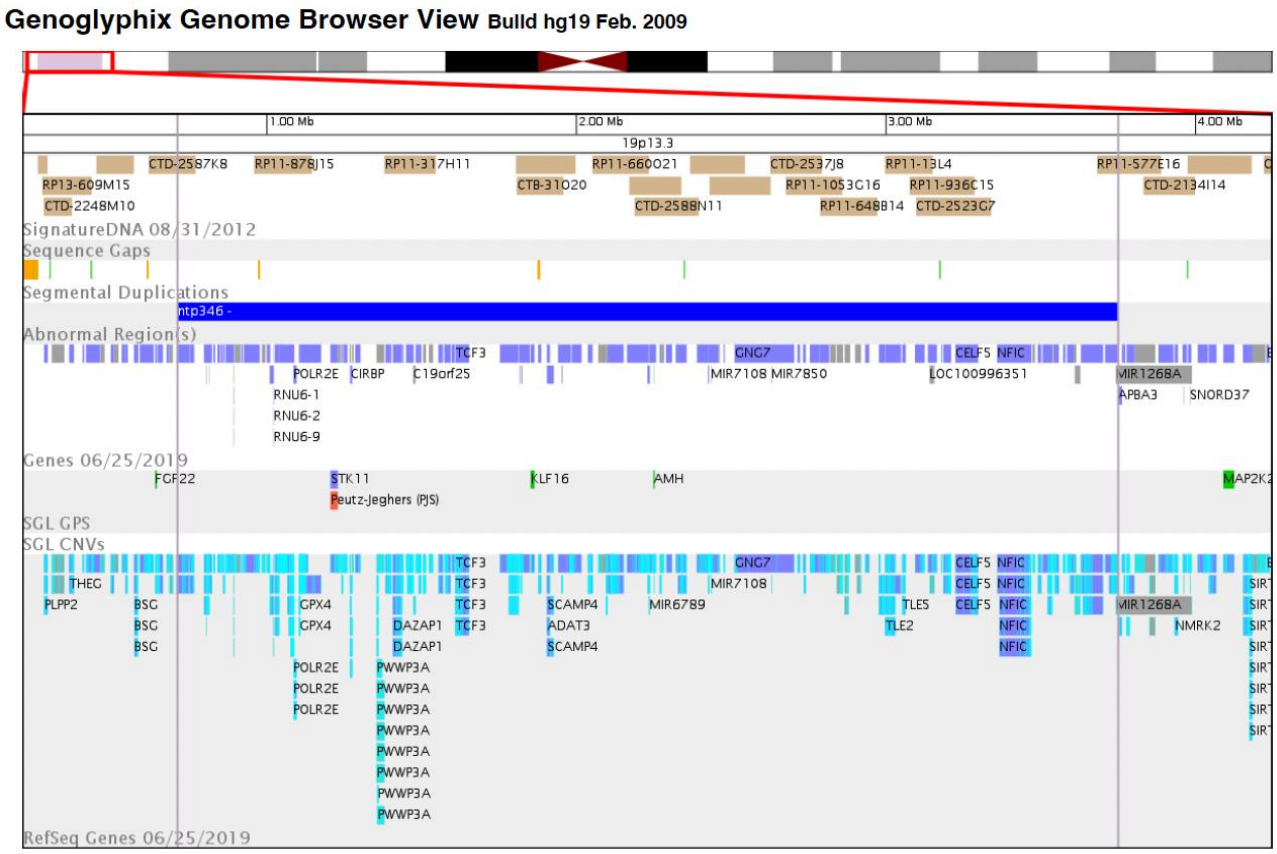


Рисунок 24 – Микроделеция 19p13.3

Кроме этого в зоне делеции затрагиваются функционально важные гены ARID3A (OMIM 603266), GPX4 (OMIM 138322), MBD3 (OMIM 603573) и другие, участвующие в транскрипционной регуляции, антиоксидантной защите, нейрогенезе, ядерной архитектуре и сигнальных каскадах [169-172]. Совокупная утрата копийности этих генов приводит к нарушению базовых клеточных программ, включая пролиферацию, метаболическую адаптацию и эпигенетическую регуляцию.

В литературе описаны фенотипически тяжелые случаи крупных микродеций 19p13.3, сопровождающееся выраженными нарушения развития, кранифациальными нарушениями и врожденными пороками развития [173-176].

Микроделеция 21q22.3 размером 2,175 Мб, ассоциированная с синдромом Holoprosencephaly 1, выявлена у абортуса P01-348-01. (Рисунок 25). Регион характеризуется высокой генной плотностью и включает ряд функционально значимых генов, в том числе DNMT3L, CBS, AIRE, ICOSLG, TRPM2, WDR4, PKNOX1, UAF1 и CSTB. Указанные гены участвуют в углеводном обмене, формируют иммунную толерантность и основных клеточныч процессах. Клинические наблюдения показывают, что утрата данного сегмента сопровождается множественными системными нарушениями, что указывает на ограниченные возможности компенсации [177].

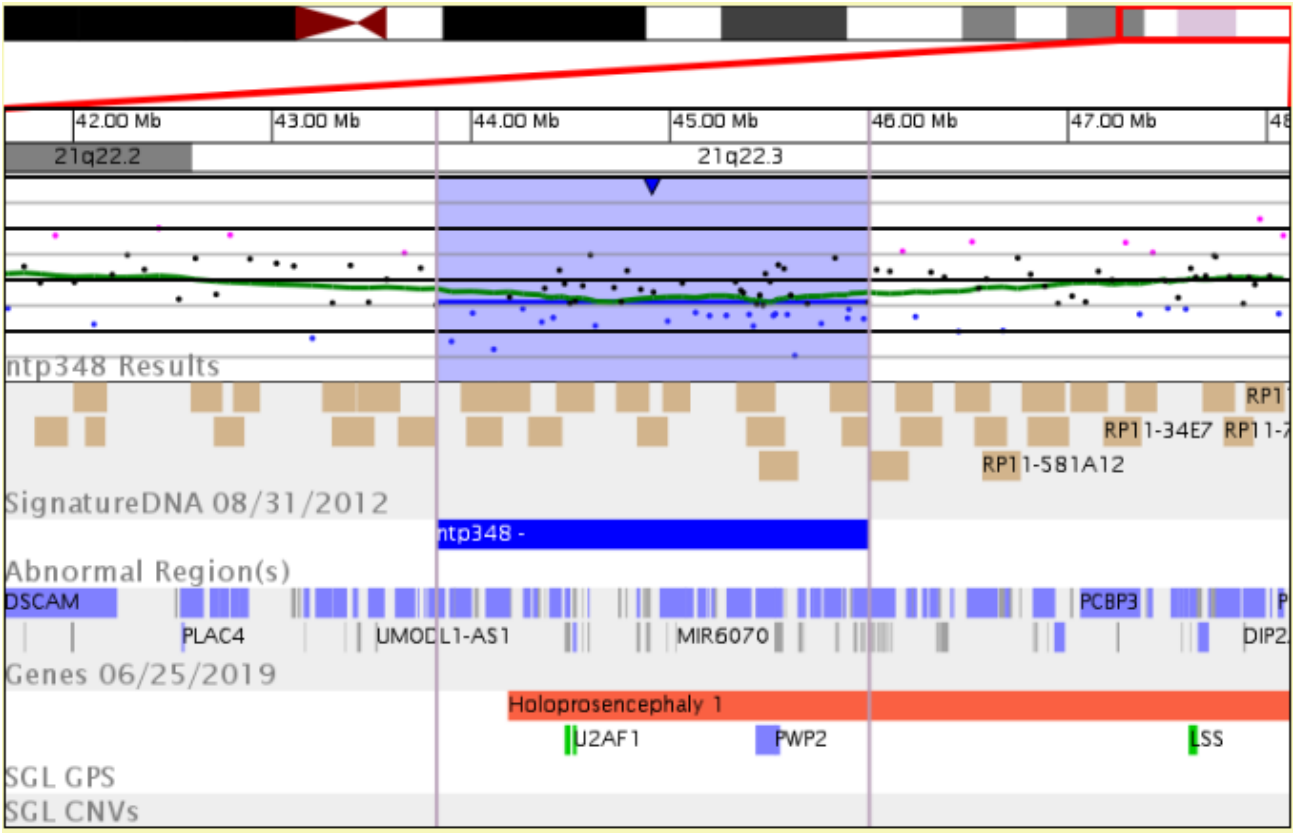


Рисунок 25 – Микроделеция 21q22.3

Локус 21q22.3 содержит ряд генов, необходимых для нормального развития центральной нервной системы. Описанные наблюдения показали, что

утрата генетического материала в данном регионеприводит к задержке психического и моторного развития. Кроме того делеция ассоциирована с аплазией и гипоплазией мозолистого тела и гипофиза. Это подтверждает значение делеции в локусе 21q22.3 в формировании тяжелых субмикроскопических синдромов [177-179].

Выявленная микроделеция связана с синдромом голопрозэнцефалии 1. Состояние представляет собой нарушение часто приводящее к летальному исходу. Голопрозэнцефалия 1 типа является тяжелым пороком переднего мозга, возникающего в следствие неразделения мозга на левое и правое полушарие. Клинический спектр варьируется от алобарной формы, практически несовместимой с жизнью, до более мягких (семилобарных и лобарных) форм. Крупные дистальные делеции 21q затрагивают сразу несколько систем регуляции, что объясняет высокую вероятность летального исхода на ранних этапах сроках и выявление в фетальном материале.

Для микроделеции 20q13.33 в фетальном материале P01-355-02, связи с потерей беременности не установлена. В большинстве случаев делеция в данном участке выявляется в постнатальном периоде. Мутации в данном локуче часто связаны с проявлением неврологических фенотипов [180-183].

Графическое изображение патологии представлено на Рисунке 26.

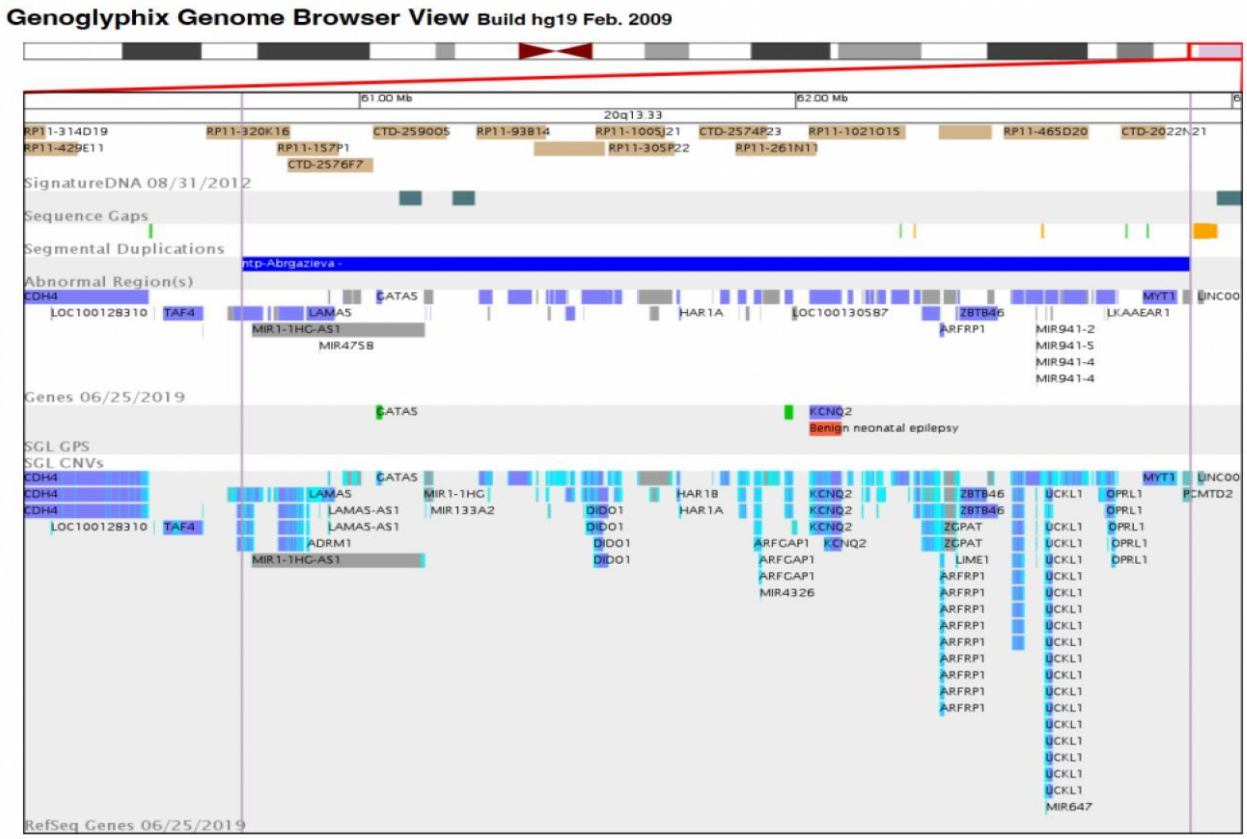


Рисунок 26 – Микроделеция 20q13.33

В то же время подчеркивается, что данный регион включает гены, потенциально значимые для раннего развития нейронов и регуляции возбудимости. В состав региона входит ген ген KCNQ2. Гаплонедостаточность данног гена приводит к нарушению мембранной стабильности нейронов. Патогенные варианты этого гена ассоциированы с неонатальными судорогами новорожденных. Однако в экспериментальных работах указывают, что экспрессия калиевых каналов этого семейства на ранних этапах нейрогенеза теоретически допускает их вклад в формирование неблагоприятного фенотипа при более протяженных делециях [180].

Отдельные пренатальные наблюдения и единичные случаи делеции 20q13.32-q13.33 описаны в материалах спонтанного аборта. Однако они не показали статистически значимого результата и интерпретируются как варианты с неопределенным или ограниченным вкладом в исход беременности [183].

На рисунке 27 представлена микроделеция участка 5p13.2 и включающая гены NIPBL, CPLANE1 и NUP155.

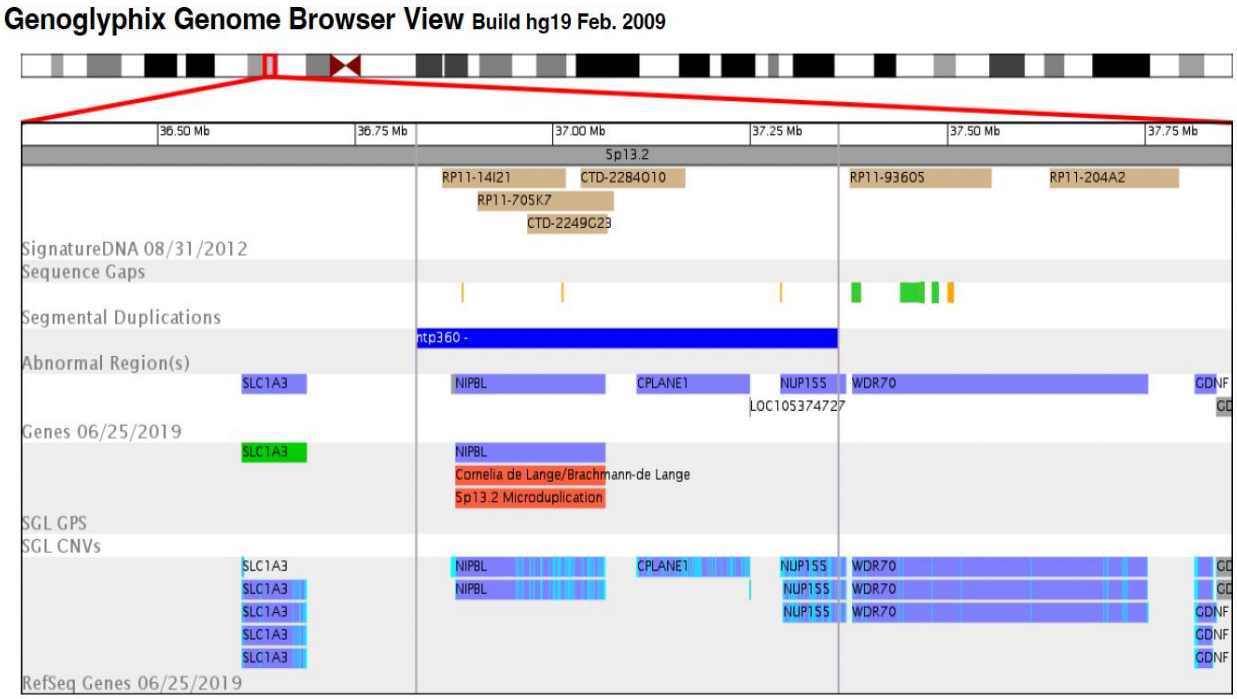


Рисунок 27 – Микроделеция 5p13.2

Наиболее значимым геном данного региона является NIPBL. Утрата копии NIPBL является причиной синдрома Корнелии де Ланге. Данный синдром является приводит к формированию тяжелого врожденного синдрома с выраженной психической задержкой и множественными пороками развития [184].

В исследованиях показано, что ген NIPBL выполняет функцию регулятора транскрипции и контролирует экспрессию большого числа генов,

участвующих в раннем морфогенезе и органогенезе. Снижение его экспрессии приводит к системной дисрегуляции сигнальных путей развития [185].

Следует подчеркнуть, что в абортном материале выявляются не только микрополомки данного участка, но и протяженные делеции размером более 5 Мб. По данным исследований ХМА абортного материала, такие перестройки занимают значительную долю CNV и достоверно чаще выявляются в ранние сроки потерь беременности, чем у новорожденных [186].

Наиболее протяженная делеция выявлена в образце P01-370-02. Размер потери длинного плеча 8 хромосомы в области 8q22.1 составил 10,6 Мб (Рисунок 28). В делетированном участке расположено множество генов, необходимых для регуляции клеточного цикла, апоптоза и энергетического метаболизма.

Ген CCNE (OMIM 603260) кодирует циклин E2, участвующий в контроле перехода клеток из фазы G0 в S-фазу. Нарушение его дозировки приводит к дефектам пролиферации и задержке роста тканей [187].

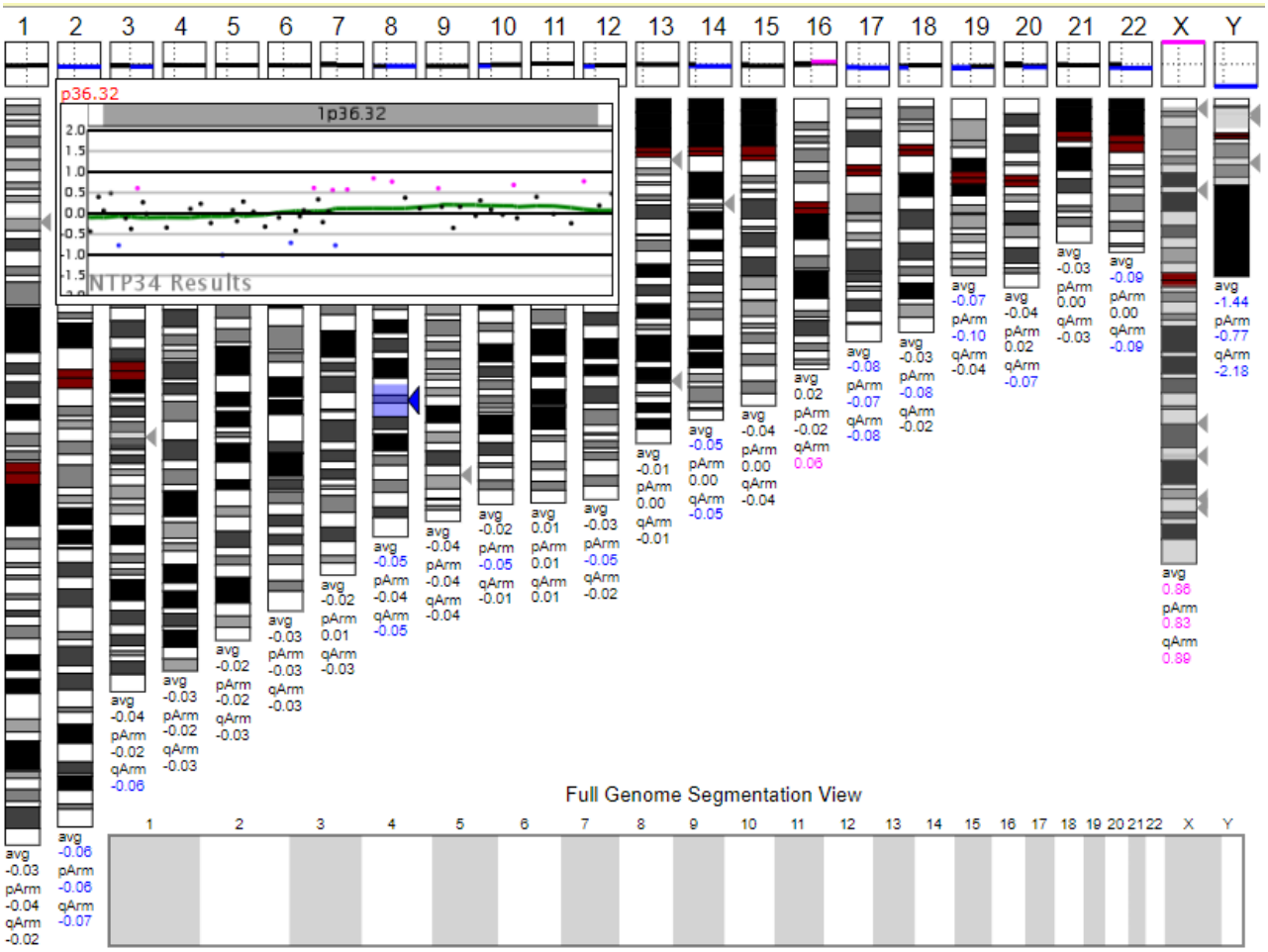


Рисунок 28 – Делеция 8q22.1

В область делетированного сегмента также входят гены UQCRB и RRM2B, участвующие в работе митохондриальной дыхательной цепи и поддерживании пула дезокрибонуклеотидов. Потеря копии данных генов

приводит к нарушению репликации митохондриальной ДНК и рассматривается как один из механизмов ранней эмбриональной потери.

В регионе описан редкий Nabulus mask-like facial syndrome (OMIM 608156). Синдром характеризуется типичным фенотипическим комплексом (маскообразное лицо, битемпоральное сужение, ретрогнатия, задержка психомоторного развития и врожденные пороки внутренних органов) [188].

Анализ выявленных делеций показывает, что утрата копий участков хромосомы является одним из неблагоприятных вариантов хромосомных нарушений при привычном невынашивании беременности. Делеции связаны с гаплонедостаточностью генов и сопровождаются нарушением множества биологических процессов, критичных для эмбриогенеза.

3.3.4 Дупликация Xp11.22-11.23 как редкий вариант несбалансированной перестройки фетального материала

Дупликация участка Xp11.22-11.23, представленная на Рисунке 29 является единственным выявленным вариантом избыточности генетического материала. Дупликаиця представлена на Рисунке 29.

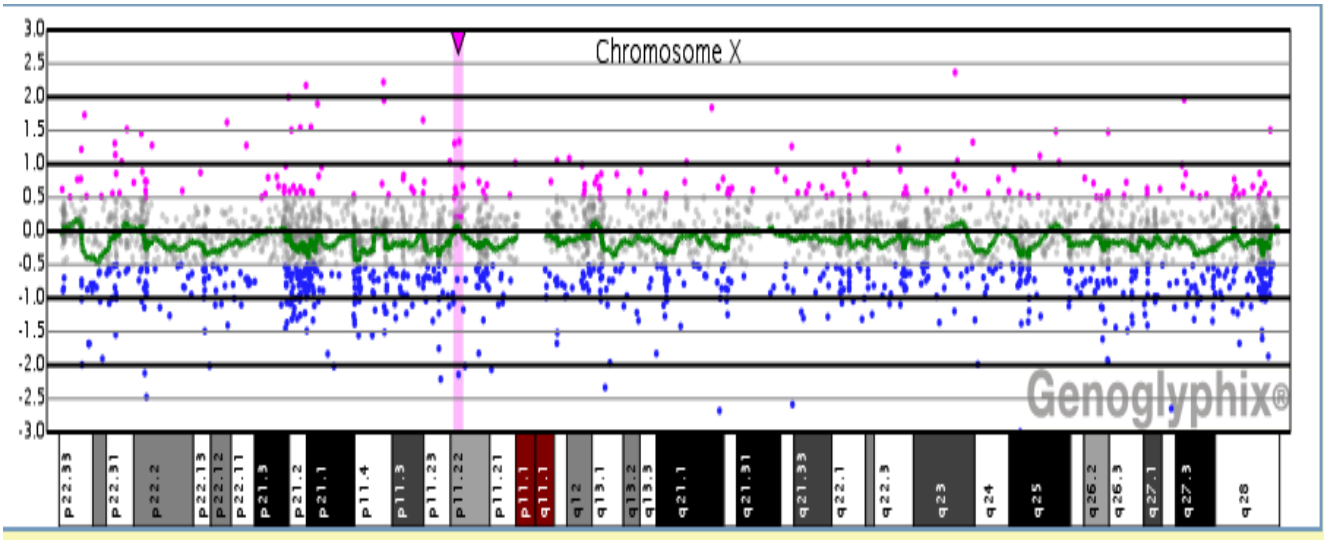


Рисунок 29 – Дупликация Xp11.22-11.23

Большинство случаев патологии описаны в постнатальном периоде и ассоциированы с Х-сцепленными формами задержки психомоторного и речевого развития, эпилептическими приступами и поведенческими особенностями.

В патогенезе наиболее значимым геном является SHROOM4 (OMIM 300579). Экспрессия данного гена связана с формированием цитоскелета нейронов и развитием коры головного мозга [189, 190].

По данным ClinGen, для участка Xp11.22-p11.23 установлена достоверная чувствительность к увеличению копийности. Это подтверждает патогенность дупликации, однако не приводит к летальному исходу в эмбриональном периоде [191].

3.3.5 Комбинированная аномалия в структуре CNV абортного материала

В ходе проведенного aCGH выявлена перестройка длинного плеча 6 хромосомы. Поломка объединяет дупликацию 6q22.1-q25.1 размером 34,7 Мб и делецию 6q25.2-q27 размером 17 Мб (Рисунок 230). Такое сочетание относится к категории тяжелых геномных нарушений [192].

Дупликации средней и большой протяженности 6q22-q25 хорошо описаны. Такие аномалии рассматриваются как дозозависимые перестройки, оказывающие влияние на формирование ЦНС, сердечно-сосудистой системы и развитие плаценты. Обобщенный анализ клинических наблюдений, представленный RareChromo, показывают, что дупликации 6q22-q27 сопровождаются тяжелыми нарушениями в эмбриональном периоде. Они включают задержку роста плода, пороки мозга, врожденные аномалии и высокий риск антенатальной гибели [193]. В работе Grati и соавт. (2005) также показано, что крупные дупликации 6q22-qter, приводящие к тяжелым пренатальным нарушениям, водянке и летальному исходу беременности [194].

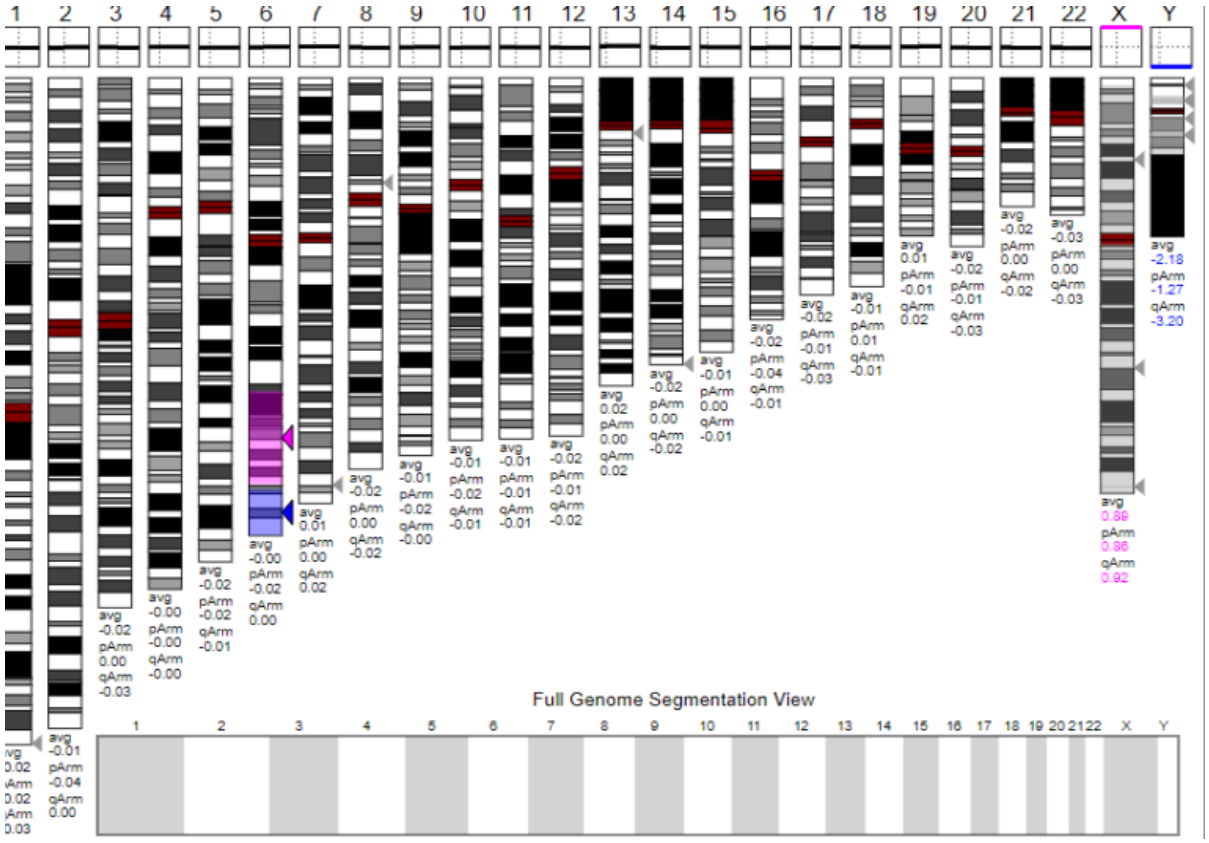


Рисунок 30 – Дупликация 6q22.1-q25.1 и делеция 6q25.2-q27

Вторым компонентом перестройки является делеция 6q25.2-q27. Этот участок включает критически важные гены регуляции транскрипции, дифференцировки нейронов и органогенеза. Дистальные делеции 6q приводят к формированию тяжелого фенотипа, включая пороки головного мозга, скелетные аномалии, нарушения слуха, глубокую задержку роста и

несостоятельность плацентарных процессов. В обзоре RareChromo подчеркнута связь делеции данного участка и невынашиваниюя беременности на ранних сроках [195].

Современные представления о терминальных утратах также подтверждают высокую частоту пренатальной летальности при делециях, охватывающих диапазон 6q25-qter [196].

3.4 Сравнительный клинико-анамнестический анализ с учетом выявленных патологий

После выявления хромосомных аномалий был проведен повторный анализ клинико-анамнестических данных с использованием непараметрических показателей. При этом было проведено сравнение группы с выявленными патологиями с группой без нарушений (Таблица 8).

Таблица 11 – Сравнительный анализ непараметрических показателей с учетом выявленных патологий

Показатель	Группа с ХА	Группа без патологий	Медиана	Chi^2	p-значение
Возраст	34,28±4.59	32,91±6,41	32,0	1,577	0,2092
Количество беременностей	5,17±2,38	4,11±2,24	4,0	3,449	0,0633
Ранние самопроизвольные аборты	2,89±1,68	2,68±1,15	2,0	0,391	0,5317
Неразвивающиеся беременности	0,56±0,51	0,28±0,61	0,0	7,401	0,0065
Срок беременности	6,61±1,29	8,17±1,92	8,0	8,200	0,0042

Анализ показал, что возраст женщин не оказывал статистически значимого влияния на вероятность хромосомных патологий. Средний возраст в группе с патологией 34,28±4,59 года, а во второй – 32,91±6,41. Медианный возраст составил 32 года, различия между группами недостоверны (p=0,2092). Аналогично, статистическая значимость не выявлена при сравнении общего количества беременностей в двух группах и ранних самопроизвольных абортов, p равно 0,0633 и 0,0065 соответственно.

В то же время выявлено статистически значимое различие по двум параметрам. Частоты неразвивающейся беременности статистически значимо отличались между группами (p=0,0065). Отмечается, что в группе с патологией число неразвивающихся беременностей было достоверно выше (0,56±0,51) в 2 раза, что объясняется тем, что беременности с хромосомной патологией чаще реализуются остановкой развития эмбриона. Срок беременности также был

достоверно ниже в группе с выявленной хромосомной аномалией 6,61±1,29 (p=0,0042).

Таким образом, повторное исследование и сравнение некоторых клинико-анамнестических данных показало, что большинство параметров пациенток с иПНБ не позволяют надежно ассоциировать с наличием хромосомных аномалий. В то же время, было показано, что в при выявлении CNV отмечается изменение характера исхода беременности и срока прерывания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование продемонстрировало, что применение современных молекулярно-диагностических методов существенно меняет представление об этиологии привычного невынашивания беременности, ранее в значительной степени рассматриваемое как идиопатическое. Еще недавно половина случаев ПНБ квалифицировалось как необъяснимая потеря вследствие отсутствия достоверных инструментов для анализа геномного статуса фетального материала. Современные методы полногеномного исследования позволяют выявлять хромосомные патологии, ранее недоступных для диагностики.

Применение FISH как инструмента первичной диагностики абортного материала подтвердило существенные ограничения традиционных методов при работе с некультивируемым абортным материалом. Исследование 40 абортусов не дало информативного результата вследствие выраженной морфологической деструкции тканей, аутолиза и фрагментации. В условиях успешного теста спектр выявленных аномалий позволил бы выявить патологии только двух образцов, в которых обнаружена моносомия X.

В противоположность этому хромосомный микроматричный анализ показал высокую информативность, тест выполнен в 100% случаев. Метод позволил выявить как классические анеуплоидии, так и различные CNV – микроделеций, микродупликаций и крупных сегментарных дисбалансов.

Полученные результаты показали, что в 18% случаев, первоначально классифицируемых как иПНБ, фактически имеются различные аномалии хромосом, что позволяет пересматривать этиологическую структуру привычного невынашивания и существенно сократить долю необъяснимых репродуктивных потерь.

Анализ структур выявленных геномных нарушений выявил выраженную неоднородность, отражающую сложный характер генетического вклада в эмбриональную несостоятельность. Наиболее часто обнаружены микроделеции в 10 (55,6%) случаев всех аномалий и затрагивающие функционально насыщенные участки генома, отвечающие за регуляцию раннего нейро- и органогенеза, межклеточной коммуникации и клеточного цикла. При анализе выявленных делеций обнаружено, что 90% из них однозначно ассоциированы с летальностью эмбриона в ранние сроки. В случае микроделеции 20q13.33 однозначная связь с невынашиванием беременности не установлена.

Вклад микродупликации (5,6%) в причину репродуктивных потерь также неоднозначен, так как синдром микродупликации Xp11.22-11.23 чаще выявлялся у новорожденных, чем в ДНК абортусов. Еще в одном случае была установлена сложная перестройка длинного плеча 6 хромосомы, содержащая протяженную дупликацию проксимального участка и делецию дистального участка 6q. Каждая из этих перестроек однозначно связана с летальностью эмбриона, что также позволяет отнести данную патологию к причинам ПНБ в

ранние сроки. Такие результаты однозначно ассоциированы с выявленными аномалиями и подтверждают остановку развития эмбриона в ранние сроки.

Числовые аномалии, в отличие от множества других исследований причин репродуктивных потерь, выявлены в 33,3% абортусов. Анеуплоидии представлены наиболее распространенными трисомиями 16, 22 хромосом, моносомии X хромосомы, а также частичной трисомией 8 хромосомы и комбинированной моносомией 19 и X хромосом. Данные аномалии доказанно относятся к причинам летальности эмбрионов в ранние сроки.

Сравнительный анализ клинико-анамнестических данных женщин (возраста, количества беременностей, ранних самопроизвольных абортов, количества неразвивающихся беременностей и сроков прерывания) показал неоднозначные результаты. Несмотря на то, что средний возраст группы женщин с хромосомными аномалиями абортусов (34,28±4,59), количество беременностей (5,17±2,38) и ранних самопроизвольных родов (2,89±1,68) были выше, однозначной связи с хромосомными патологиями установить не удалось ($p>0,05$). При этом, в группе женщин с выявленной патологией в фетальном материале, достоверно чаще встречались случаи неразвивающейся беременности, а срок прерывания беременности был ниже (p равно 0,0065 и 0,0042 соответственно).

Полученные данные формируют основу для разработки диагностического алгоритма при привычном невынашивании беременности, в котором хромосомный микроматричный анализ должен рассматриваться как метод первого выбора при исследовании абортного материала согласно рекомендациям международных профессиональных сообществ. Данный алгоритм предусматривает последовательные шаги по обследованию пар с 2 и более случаями репродуктивных потерь.

На первом этапе проводится первичное обследование (сбор анамнеза, УЗИ, гормоны, инфекции, коагулограмма, гистеросальпингография и др.), которое позволяет исключить наиболее распространенные причины ПНБ. Если нарушения не обнаружены, проводится предтестовое медико-генетическое консультирование пары с целью объяснения метода ХМА, его возможностей и ограничений при ПНБ.

Следующим этапом является проведение хромосомного микроматричного анализа с последующей оценкой выявленных нарушений. При установлении патогенной CNV/анеуплоидии абортного материала проводится кариотипирование и/или хромосомный микроматричный анализ супружеской пары. Далее предполагается посттестовое консультирование. При отсутствии патогенного результата рекомендуется исследование генов, предрасполагающих к наследственной тромбофилии, патологическому иммунному ответу и др. (Генетический паспорт). При выявлении аномалий кариотипа супружеской пары рекомендовано предимплантационное тестирование или пренатальная диагностика последующей беременности. Схематическое изображение алгоритма представлено в ПРИЛОЖЕНИИ В.

Таким образом, проведенное исследование позволило сделать следующие выводы:

1. Выраженный аутолиз абортного материала ограничивает применение FISH для диагностики анеуплоидий. Во всех 40 образцах (100%) не удалось оценить число копий исследуемых хромосом. Использованная панель зондов к хромосомам 13, 18, 21, X и Y согласно Тарификатора медицинских услуг МЗ РК ограничивала спектр выявляемых нарушений по сравнению с aCGH.

2. Показана техническая осуществимость и 100% интепретируемость результатов ХМА при исследование абортного материала у женщин с иПНБ. ХМА обеспечил одновременную оценку всего фетального генома, выявив числовые (6%) и структурные (12%) хромосомные перестройки без культивирования клеток с минимальным размером от 0,26 Мб. Метод может рассматриваться как анализ первой линии с обеспечением получения быстрого результата, что подтверждает его диагностическую значимость в анализа фетального материала при иПНБ.

3. Хромосомные аномалии выявлены в 18% из 100 образцов абортного материала. В структуре выявленной патологии абортного материала преобладали делеции, обнаруженные в 10 случаях (55,5%). Дупликации и сочетанные перестройки выявлены по одному случаю (5,6%), числовые анеуплоидии в 33,3%. в 10 из 12 образцов с патогенными CNV (83,3%) перестройки затрагивали гены, участвующие в эмбрио- и плацентогенезе.

У женщин с хромосомными нарушениями в абортном материале среднее число неразвивающихся беременностей в анамнезе было выше, чем в группе без выявленных аномалий, и составило 0,56±0,51 против 0,28 ± 0,61 (p 0,0065). Средний срок потери беременности был меньше и составил 6,61±1,29 и 8,17 ± 1,92 недели соответственно (p 0,0042). Статистически значимых различий по возрасту женщин, общему количеству беременностей и числу ранних самопроизвольных абортов между группами не установлено.

4. Разработан Алгоритм молекулярно-генетического обследовании при ПНБ (ПРИЛОЖЕНИЕ Д), включающее медико-генетическое консультирование, ХМА абортного материала, клиническую интерпретацию выявленных вариантов, обследование родителей по показаниям и прегравидарную подготовку. В дополнение к кариотипированию супругов предусмотренному клиническим протоколом МЗ РК «Невынашивание беременности: клинический протокол диагностики и лечения» (2023, №185) [197], алгоритм предусматривает полногеномное исследование фетального материала для выявления анеуплоидий и несбаласированных структурных нарушений.

На основании полученных выводов, предлагаются следующие научно-обоснованные рекомендации:

1. Пациентки с двумя и более самопроизвольными потерями с неустановленной этиологий после проведения первичного обследования супружеской пары для исключения известных причин ПНБ, должны быть направлены на медико-генетическое консультирование для оценки вероятных генетических причин.

2. Предтестовое консультирование проводится с информированием о диагностических возможностях ХМА абортного материала.

3. Хромосомный микроматричный анализ следует рассматривать как метод первой линии при исследовании фетального материала, благодаря его высокой диагностической ценности.

4. Интерпретация материала должна включать классификацию вариантов (патогенные, VOUS, нормальный кариотип) и проводиться с обязательным использованием международных данных.

5. При выявлении патогенных вариантов или VOUS рекомендовано проведение исследования родителей методом классического кариотипирования или ХМА.

6. Посттестовое консультирование должно включать оценку повторения риска генетических нарушений, рекомендаций по предимплантационной и пренатальной диагностике.

7. Планирование последующей беременности должно основываться на персонализированной оценке генетических данных и формировании индивидуальной тактики ведения пары согласно Алгоритму.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Правительство Республики Казахстан. Об утверждении Концепции развития здравоохранения Республики Казахстан на 2022–2029 годы. Постановление от 24 ноября 2022 года № 945, с изменениями от 11 марта 2026 года. https://adilet.zan.kz/rus/docs/P2200000945

2 Yang X, Wang R, Zhang W, Yang Y, Wang F. Predicting risk of the subsequent early pregnancy loss in women with recurrent pregnancy loss based on preconception data. BMC Womens Health. 2024;24(1):381. Published 2024 Jul 2. doi:10.1186/s12905-024-03206-9

3 Cao C, Bai S, Zhang J, Sun X, Meng A, Chen H. Understanding recurrent pregnancy loss: recent advances on its etiology, clinical diagnosis, and management. Med Rev (2021). 2022;2(6):570-589. Published 2022 Dec 19. doi:10.1515/mr-2022-0030

4 Chester, M.R., Tirlapur, A., & Jayaprakasan, K. (2022). Current management of recurrent pregnancy loss. The Obstetrician & Gynaecologist, 24. DOI: 10.1111/tog.12832

5 Turesheva A, Aimagambetova G, Ukybassova T, Marat A, Kanabekova P, Kaldygulova L, Amanzholkyzy A, Ryzhkova S, Nogay A, Khamidullina Z, Ilmaliyeva A, Almawi WY, Atageldiyeva K. Recurrent Pregnancy Loss Etiology, Risk Factors, Diagnosis, and Management. Fresh Look into a Full Box. J Clin Med. 2023 Jun 15;12(12):4074. doi: 10.3390/jcm12124074. PMID: 37373766; PMCID: PMC10298962.

6 Vomstein K, Aulitzky A, Strobel L, Bohlmann M, Feil K, Rudnik-Schöneborn S, Zschocke J, Toth B. Recurrent Spontaneous Miscarriage: a Comparison of International Guidelines. Geburtshilfe Frauenheilkd. 2021 Jul;81(7):769-779. doi: 10.1055/a-1380-3657. Epub 2021 Apr 23. PMID: 34276063; PMCID: PMC8277441.

7 Regan L, Rai R, Saravelos S, Li TC; Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Recurrent MiscarriageGreen-top Guideline No. 17. BJOG. 2023;130(12):e9-e39. doi:10.1111/1471-0528.17515

8 Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. Fertil Steril. 2013;99(1):63. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.09.023

9 ESHRE Guideline Group on RPL, Bender Atik R, Christiansen OB, et al. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss: an update in 2022. Hum Reprod Open. 2023;2023(1):hoad002. Published 2023 Mar 2. doi:10.1093/hropen/hoad002

10 Roberts JE, Benoit J, Foong S, et al. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic treatments: a Canadian Fertility and Andrology Society clinical practice guideline. Reprod Biomed Online. 2024;48(5):103767. doi:10.1016/j.rbmo.2023.103767

11 Святова, Г. С., Березина, Г. М., Салимбаева, Д. Н., Кирикбаева, М. С., Муртазалиева, А. В., & Садуакасова, К. З. (2019). Генетические аспекты

идиопатической формы привычного невынашивания беременности. Обзор литературы. Наука и здравоохранение, (4), 37-49.

12 Liao N, Zhang Z, Liu X, Wang J, Hu R, Xiao L, Yang Y, Lai Y, Zhu H, Li L, Liu S, Wang H, Hu T. A chromosomal microarray analysis-based laboratory algorithm for the detection of genetic etiology of early pregnancy loss. Front Genet. 2023 Jun 29;14:1203891. doi: 10.3389/fgene.2023.1203891. PMID: 37470043; PMCID: PMC10352453.

13 D'Ippolito S, Longo G, Orteschi D, et al. Investigating the "Fetal Side" in Recurrent Pregnancy Loss: Reliability of Cell-Free DNA Testing in Detecting Chromosomal Abnormalities of Miscarriage Tissue. J Clin Med. 2023;12(12):3898. Published 2023 Jun 7. doi:10.3390/jcm12123898

14 Kutteh WH, Papas RS, Maisenbacher MK, Dahdouh EM. Role of genetic analysis of products of conception and PGT in managing early pregnancy loss. Reprod Biomed Online. 2024;49(1):103738. doi:10.1016/j.rbmo.2023.103738

15 Reddy, U. M., Page, G. P., Saade, G. R., Silver, R. M., Thorsten, V. R., Parker, C. B., Pinar, H., Willinger, M., Stoll, B. J., Heim-Hall, J., Varner, M. W., Goldenberg, R. L., Bukowski, R., Wapner, R. J., Drews-Botsch, C. D., O'Brien, B. M., Dudley, D. J., Levy, B., & NICHD Stillbirth Collaborative Research Network (2012). Karyotype versus microarray testing for genetic abnormalities after stillbirth. The New England journal of medicine, 367(23), 2185–2193. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1201569

16 Dhillon, R. K., Hillman, S. C., Morris, R. K., McMullan, D., Williams, D., Coomarasamy, A., & Kilby, M. D. (2014). Additional information from chromosomal microarray analysis (CMA) over conventional karyotyping when diagnosing chromosomal abnormalities in miscarriage: a systematic review and meta-analysis. BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology, 121(1), 11–21. https://doi.org/10.1111/1471-0528.12382

17 Ozawa, N., Sago, H., Matsuoka, K., Maruyama, T., Migita, O., Aizu, Y., & Inazawa, J. (2016). Cytogenetic analysis of spontaneously discharged products of conception by array-based comparative genomic hybridization. SpringerPlus, 5(1), 874. https://doi.org/10.1186/s40064-016-2594-6

18 Sadyrbekova, A., Svyatova, G., Berezina, G., Suleimenova, R., & Murtazaliyeva, A. (2025). Molecular cytogenetic study of the fetal genome in idiopathic recurrent pregnancy loss. International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics, 170(1), 259–267. https://doi.org/10.1002/ijgo.16163

19 Sadyrbekova, A., Svyatova, G., Berezina, G., Suleimenova, R., & Murtazaliyeva, A. (2025). Study of abortion material in idiopathic habitual miscarriage of pregnancy: Literature review. Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego, 53(3), 409–417. https://doi.org/10.36740/Merkur202503117

20 Генетика идиопатической формы невынашивания беременности: Генетические предикторы идиопатической формы привычного невынашивания беременности в казахской популяции (русское издание)/ под ред. Г.М.

Березиной. – LAP LAMBERT Academic Publishing, 2023, 220 страниц, ISBN-13 : 978-6207451531

21 Suker, A., Li, Y., Robson, D., Marren, A., & Australasian CREI (Certificate of Reproductive Endocrinology and Infertility) Consensus Expert Panel on Trial Evidence (ACCEPT) group (2024). Australasian Recurrent Pregnancy Loss Clinical Management Guideline 2024 Part I. The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology, 64(5), 432–444. https://doi.org/10.1111/ajo.13821

22 Sato, T., Migita, O., Hata, H., Okamoto, A., & Hata, K. (2019). Analysis of chromosome microstructures in products of conception associated with recurrent miscarriage. Reproductive biomedicine online, 38(5), 787–795. https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.12.010

23 Papas, R. S., & Kutteh, W. H. (2020). A new algorithm for the evaluation of recurrent pregnancy loss redefining unexplained miscarriage: review of current guidelines. Current opinion in obstetrics & gynecology, 32(5), 371–379. https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000647

24 Ali, S., Majid, S., Niamat Ali, M., Taing, S., El-Serehy, H. A., & Al-Misned, F. A. (2020). Evaluation of etiology and pregnancy outcome in recurrent miscarriage patients. Saudi journal of biological sciences, 27(10), 2809–2817. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.049

25 Laijawala R. A. (2024). Recurrent Pregnancy Loss: Immunological aetiologies and associations with mental health. Brain, behavior, & immunity - health, 41, 100868. https://doi.org/10.1016/j.bbih.2024.100868

26 Shehata, H., Ali, A., Silva-Edge, M., Haroon, S., Elfituri, A., Viswanatha, R., Jan, H., & Akolekar, R. (2022). Thrombophilia screening in women with recurrent first trimester miscarriage: is it time to stop testing? - a cohort study and systematic review of the literature. BMJ open, 12(7), e059519. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-059519

27 Liu, X., Chen, Y., Ye, C., Xing, D., Wu, R., Li, F., Chen, L., & Wang, T. (2021). Hereditary thrombophilia and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. Human reproduction (Oxford, England), 36(5), 1213–1229. https://doi.org/10.1093/humrep/deab010

28 Zhu D, Wei X, Zhou XY, Deng LB, Xiong SY, Chen JP, Chen GQ, Zou G, Sun LM. Chromosomal abnormalities in recurrent pregnancy loss and its association with clinical characteristics. J Assist Reprod Genet. 2023 Jul;40(7):1713-1720. doi: 10.1007/s10815-023-02816-w. Epub 2023 Jun 1. PMID: 37261584; PMCID: PMC10352212.

29 Melo, P., Dhillon-Smith, R., Islam, M. A., Devall, A., & Coomarasamy, A. (2023). Genetic causes of sporadic and recurrent miscarriage. Fertility and sterility, 120(5), 940–944. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.08.952

30 Carey, A. Z., Blue, N. R., Varner, M. W., Page, J. M., Chaiyakunapruk, N., Quinlan, A. R., Branch, D. W., Silver, R. M., & Workalemahu, T. (2021). A systematic review to guide future efforts in the determination of genetic causes of pregnancy loss. Frontiers in reproductive health, 3, 770517. https://doi.org/10.3389/frph.2021.770517

31 Kaldygulova, L., Yerdessov, S., Ukybassova, T., Kim, Y., Ayaganov, D., & Gaiday, A. (2024). Polymorphism of Folate Metabolism Genes among Ethnic Kazakh Women with Preeclampsia in Kazakhstan: A Descriptive Study. Biology, 13(9), 648. https://doi.org/10.3390/biology13090648

32 Mehta, P., Vishvkarma, R., Singh, K., & Rajender, S. (2022). MTHFR 1298A>C Substitution is a Strong Candidate for Analysis in Recurrent Pregnancy Loss: Evidence from 14,289 Subjects. Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.), 29(4), 1039–1053. https://doi.org/10.1007/s43032-021-00530-5

33 Alfaleh, A., Alkattan, A., Mahmoud, N., Alfaleh, F., Almutair, N., Alanazi, A., Kbbash, I., & Radwan, N. (2023). The Association Between MTHFR C677T Gene Polymorphism and Repeated Pregnancy Loss in Arabic Countries: a Systematic Review and Meta-Analysis. Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.), 30(7), 2060–2068. https://doi.org/10.1007/s43032-023-01201-3

34 Zhang, Y., Zhan, W., Du, Q., Wu, L., Ding, H., Liu, F., & Yin, A. (2020). Variants c.677 C>T, c.1298 A>C in MTHFR, and c.66 A>G in MTRR Affect the Occurrence of Recurrent Pregnancy Loss in Chinese Women. Genetic testing and molecular biomarkers, 24(11), 717–722. https://doi.org/10.1089/gtmb.2020.0106

35 Sayal, H. B., & Beksac, M. S. (2024). The effect of hereditary thrombophilia on recurrent pregnancy loss: a retrospective cohort study. BMC pregnancy and childbirth, 24(1), 719. https://doi.org/10.1186/s12884-024-06926-w

36 Khalife, S., & Geitani, R. (2022). Association of Inherited Thrombophilia with Recurrent Pregnancy Loss in A Population of Lebanese Women: A Case Control Study. International journal of fertility & sterility, 16(3), 247–251. https://doi.org/10.22074/ijfs.2022.540950.1205

37 Liu, X., Chen, Y., Ye, C., Xing, D., Wu, R., Li, F., Chen, L., & Wang, T. (2021). Hereditary thrombophilia and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. Human reproduction (Oxford, England), 36(5), 1213–1229. https://doi.org/10.1093/humrep/deab010

38 MORROW, G.B. and MUTCH, N.J. 2023. Past, present, and future perspectives of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1). Seminars in thrombosis and hemostasis [online], 49(3), pages 305-313. Available from: https://doi.org/10.1055/s-0042-1758791

39 Cho, H. Y., Park, H. S., Ahn, E. H., Ko, E. J., Park, H. W., Kim, Y. R., Kim, J. H., Lee, W. S., & Kim, N. K. (2021). Association of Polymorphisms in Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1), Tissue Plasminogen Activator (tPA), and Renin (REN) with Recurrent Pregnancy Loss in Korean Women. Journal of personalized medicine, 11(12), 1378. https://doi.org/10.3390/jpm11121378

40 Leander, K., Wiman, B., Hallqvist, J., Falk, G., & De Faire, U. (2002). The G-455A polymorphism of the fibrinogen Bbeta-gene relates to plasma fibrinogen in male cases, but does not interact with environmental factors in causing myocardial infarction in either men or women. Journal of internal medicine, 252(4), 332–341. https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.2002.01041.x

41 Al-Astal, M. G., & Sharif, F. A. (2016). Beta-fibrinogen (-455 G/A) and Integrin beta-3 (PLA1/A2) polymorphisms and recurrent pregnancy loss in Gaza

strip-Palestine. International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology, 3(1), 134–138. Retrieved from https://www.ijrcog.org/index.php/ijrcog/article/view/764

42 Heidari, M. M., Sheikholeslami, M., Yavari, M., Khatami, M., & Seyedhassani, S. M. (2019). The association of renin-angiotensinogen system genes polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. Human fertility (Cambridge, England), 22(3), 164–170. https://doi.org/10.1080/14647273.2017.1388545

43 Tran, N., Garcia, T., Aniqa, M., Ali, S., Ally, A., & Nauli, S. M. (2022). Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) and the Cardiovascular System: in Physiology and in Disease States. American journal of biomedical science & research, 15(2), 153–177.

44 Golestanpour, H., Bahrami, R., Dastgheib, S. A., Tabatabaei, R. S., Javaheri, A., Karimi-Zarchi, M., Mirjalili, S. R., & Neamatzadeh, H. (2021). A meta-analysis for association of eNOS VNTR 4b/a, -786 T > C and + 894G > T polymorphisms with risk of recurrent pregnancy loss. Archives of gynecology and obstetrics, 304(5), 1135–1151. https://doi.org/10.1007/s00404-021-06172-x

45 Younis, M., Ali, M. A. M., Ghareeb, D. A., Youssef, R., & Fathy, S. A. (2023). Maternal Thrombophilic and Hypofibrinolytic Genetic Variants in Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss: a Continuing Mystery. Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.), 30(2), 656–666. https://doi.org/10.1007/s43032-022-01063-1

46 Aimagambetova, G., Kapasheva, A., Bahia, W., Atageldiyeva, K., & Almawi, W. Y. (2024). Maternal HLA class II alleles and haplotypes associated with altered risk of recurrent pregnancy loss: A case-control study. American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989), 91(2), e13817. https://doi.org/10.1111/aji.13817

47 Meuleman, T., Lashley, L. E., Dekkers, O. M., van Lith, J. M., Claas, F. H., & Bloemenkamp, K. W. (2015). HLA associations and HLA sharing in recurrent miscarriage: A systematic review and meta-analysis. Human immunology, 76(5), 362–373. https://doi.org/10.1016/j.humimm.2015.02.004

48 Aruna, M., Nagaraja, T., Andal Bhaskar, S., Tarakeswari, S., Reddy, A. G., Thangaraj, K., Singh, L., & Reddy, B. M. (2011). Novel alleles of HLA-DQ and -DR loci show association with recurrent miscarriages among South Indian women. Human reproduction (Oxford, England), 26(4), 765–774. https://doi.org/10.1093/humrep/der024

49 Svyatova, G., Mirzakhmetova, D., Berezina, G., & Murtazaliyeva, A. (2021). Immunogenetic aspects of idiopathic recurrent miscarriage in the Kazakh population. Journal of medicine and life, 14(5), 676–682. https://doi.org/10.25122/jml-2021-0063

50 Murugappan, G., Leonard, S. A., Newman, H., Shahine, L., & Lathi, R. B. (2021). Karyotype of first clinical miscarriage and prognosis of subsequent pregnancy outcome. Reproductive biomedicine online, 42(6), 1196–1202. https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2021.03.021

51 ISCN 2024 - An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2024). (2024). Cytogenetic and genome research, 164(Suppl 1), 1–224. https://doi.org/10.1159/000538512

52 Bangs, C. D., & Donlon, T. A. (2005). Metaphase chromosome preparation from cultured peripheral blood cells. Current protocols in human genetics, Chapter 4, . https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0401s45

53 Никитина Т.В., Саженова Е.А., Толмачева Е.Н., Суханова Н.Н., Жигалина Д.И., Минайчева Л.И., Лебедев И.Н. Прогностическое значение кариотипа эмбриона и предыдущих исходов беременности при привычном невынашивании. Медицинская генетика. 2018;17(11):15-19. https://doi.org/10.25557/2073-7998.2018.11.15-19

54 Feichtinger M, Reiner A, Hartmann B, Philipp T. Embryoscopy and karyotype findings of repeated miscarriages in recurrent pregnancy loss and spontaneous pregnancy loss. J Assist Reprod Genet. 2018 Aug;35(8):1401-1406. doi: 10.1007/s10815-018-1226-1. Epub 2018 Jun 18. PMID: 29916100; PMCID: PMC6086789.

55 Özdemir Y, Arısoy R, Şanlıkan F, Özbay K, Semiz A. Karyotype analysis of products of conception in patients with recurrent pregnancy loss. Zeynep Kamil Med J 2022;53(4):189–192. DOI: 10.14744/zkmj.2022.34735

56 Christofolini, D. M., Bevilacqua, L. B., Mafra, F. A., Kulikowski, L. D., Bianco, B., & Barbosa, C. P. (2021). Genetic analysis of products of conception. Should we abandon classic karyotyping methodology?. Einstein (Sao Paulo, Brazil), 19, eAO5945. https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2021AO5945

57 Najafi, K., Mehrjoo, Z., Ardalani, F., Ghaderi-Sohi, S., Kariminejad, A., Kariminejad, R., & Najmabadi, H. (2021). Identifying the causes of recurrent pregnancy loss in consanguineous couples using whole exome sequencing on the products of miscarriage with no chromosomal abnormalities. Scientific reports, 11(1), 6952. https://doi.org/10.1038/s41598-021-86309-9

58 Lathi, R. B., Gustin, S. L., Keller, J., Maisenbacher, M. K., Sigurjonsson, S., Tao, R., & Demko, Z. (2014). Reliability of 46,XX results on miscarriage specimens: a review of 1,222 first-trimester miscarriage specimens. Fertility and sterility, 101(1), 178–182. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.09.031

59 Hanif, M. I., Khan, A., Arif, A., & Shoeb, E. (2019). Cytogenetic investigation of couples with recurrent spontaneous miscarriages. Pakistan journal of medical sciences, 35(5), 1422–1427. https://doi.org/10.12669/pjms.35.5.678

60 O'connor, C. (2008). Nature Education. Vol. 1. Springer; Fluorescence in situ hybridization (FISH)

61 Lebedev, I. N., Ostroverkhova, N. V., Nikitina, T. V., Sukhanova, N. N., & Nazarenko, S. A. (2004). Features of chromosomal abnormalities in spontaneous abortion cell culture failures detected by interphase FISH analysis. European journal of human genetics : EJHG, 12(7), 513–520. https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201178

62 Fejgin, M. D., Pomeranz, M., Liberman, M., Fishman, A., & Amiel, A. (2005). Fluorescent in situ hybridization: an effective and less costly technique for genetic evaluation of products of conception in pregnancy losses. Acta obstetricia et

gynecologica Scandinavica, 84(9), 860–863. https://doi.org/10.1111/j.0001-6349.2005.00757.x

63 Shearer, B., Thorland, E., Carlson, A. et al. Reflex fluorescent in situ hybridization testing for unsuccessful product of conception cultures: A retrospective analysis of 5555 samples attempted by conventional cytogenetics and fluorescent in situ hybridization. Genet Med 13, 545–552 (2011). https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e31820c685b

64 Jobanputra V, Esteves C, Sobrino A, Brown S, Kline J, Warburton D. Using FISH to increase the yield and accuracy of karyotypes from spontaneous abortion specimens. Prenat Diagn. 2011 Aug;31(8):755-9. doi: 10.1002/pd.2759. Epub 2011 Apr 11. PMID: 21484844; PMCID: PMC3791617.

65 Kim, J.W., Lyu, S.W., Sung, S.R., Park, J.E., Cha, D.H., Yoon, T.K., Ko, J.J., & Shim, S.H. (2015). Molecular analysis of miscarriage products using multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA): alternative to conventional karyotype analysis. Archives of Gynecology and Obstetrics, 291, 347-354.

66 O'Leary, Danielle et al. (2013) The use of multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) versus karyotype analysis in the investigation of pregnancy loss. American Journal of Obstetrics & Gynecology, Volume 208, Issue 1, S245. DOI: 10.1016/j.ajog.2012.10.738

67 Caramins, M., Saville, T., Shakeshaft, R. et al. A comparison of molecular and cytogenetic techniques for the diagnosis of pregnancy loss. Genet Med 13, 46–51 (2011). https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181faa0d2

68 Popescu-Hobeanu, G., Cucu, M.-G., Calotă-Dobrescu, A., Dragotă, L., Riza, A.-L., Streață, I., Pleșea, R. M., Pătru, C. L., Comănescu, C. M., Tudorache, Ș., Iliescu, D., & Burada, F. (2025). The Role of MLPA in Detecting Syndromic Submicroscopic Copy Number Variations in Normal QF-PCR Miscarriage Specimens. Genes, 16(8), 867. https://doi.org/10.3390/genes16080867

69 Saxena D, Agarwal M, Gupta D, Agrawal S, Das V, Phadke SR. Utility and limitations of multiplex ligation-dependent probe amplification technique in the detection of cytogenetic abnormalities in products of conception. J Postgrad Med. 2016 Oct-Dec;62(4):239-241. doi: 10.4103/0022-3859.192664. PMID: 27763481; PMCID: PMC5105209.

70 Shao, L., Akkari, Y., Cooley, L. D., Miller, D. T., Seifert, B. A., Wolff, D. J., Mikhail, F. M., & ACMG Laboratory Quality Assurance Committee (2021). Chromosomal microarray analysis, including constitutional and neoplastic disease applications, 2021 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics, 23(10), 1818–1829. https://doi.org/10.1038/s41436-021-01214-w

71 Wójtowicz, A., Madetko-Talowska, A., Wójtowicz, W., Szewczyk, K., Huras, H., & Bik-Multanowski, M. (2022). Cardiovascular Anomalies among 1005 Fetuses Referred to Invasive Prenatal Testing—A Comprehensive Cohort Study of Associated Chromosomal Aberrations. International Journal of Environmental Research and Public Health, 19(16), 10019. https://doi.org/10.3390/ijerph191610019

72 Ben-Mahmoud, A., Kishikawa, S., Gupta, V. et al. A cryptic microdeletion del(12)(p11.21p11.23) within an unbalanced translocation t(7;12)(q21.13;q23.1) implicates new candidate loci for intellectual disability and Kallmann syndrome. Sci Rep 13, 12984 (2023). https://doi.org/10.1038/s41598-023-40037-4

73 Wapner, R. J., Martin, C. L., Levy, B., Ballif, B. C., Eng, C. M., Zachary, J. M., Savage, M., Platt, L. D., Saltzman, D., Grobman, W. A., Klugman, S., Scholl, T., Simpson, J. L., McCall, K., Aggarwal, V. S., Bunke, B., Nahum, O., Patel, A., Lamb, A. N., Thom, E. A., … Jackson, L. (2012). Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. The New England journal of medicine, 367(23), 2175–2184. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1203382

74 Scott, S. A., Cohen, N., Brandt, T., Toruner, G., Desnick, R. J., & Edelmann, L. (2010). Detection of low-level mosaicism and placental mosaicism by oligonucleotide array comparative genomic hybridization. Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics, 12(2), 85–92. https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181cc75d0

75 Pauta, M., Grande, M., Rodriguez-Revenga, L., Kolomietz, E., & Borrell, A. (2018). Added value of chromosomal microarray analysis over karyotyping in early pregnancy loss: systematic review and meta-analysis. Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, 51(4), 453–462. https://doi.org/10.1002/uog.18929

76 Martinez-Portilla, R. J., Pauta, M., Hawkins-Villarreal, A., Rial-Crestelo, M., Paz Y Miño, F., Madrigal, I., Figueras, F., & Borrell, A. (2019). Added value of chromosomal microarray analysis over conventional karyotyping in stillbirth work-up: systematic review and meta-analysis. Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, 53(5), 590–597. https://doi.org/10.1002/uog.20198

77 Sahoo, Trilochan et al. (2016) Comprehensive genetic analysis of pregnancy loss by chromosomal microarrays: outcomes, benefits, and challenges. Genetics in Medicine, Volume 19, Issue 1, 83 - 89 DOI: 10.1038/gim.2016.69

78 Finley, J., Hay, S., Oldzej, J., Meredith, M. M., Dzidic, N., Slim, R., Aradhya, S., Hovanes, K., & Sahoo, T. (2022). The genomic basis of sporadic and recurrent pregnancy loss: a comprehensive in-depth analysis of 24,900 miscarriages. Reproductive biomedicine online, 45(1), 125–134. https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2022.03.014

79 Popescu, F., Jaslow, C. R., & Kutteh, W. H. (2018). Recurrent pregnancy loss evaluation combined with 24-chromosome microarray of miscarriage tissue provides a probable or definite cause of pregnancy loss in over 90% of patients. Human reproduction (Oxford, England), 33(4), 579–587. https://doi.org/10.1093/humrep/dey021

80 Eliwa, J., Papas, R. S., & Kutteh, W. H. (2024). Expanding the role of chromosomal microarray analysis in the evaluation of recurrent pregnancy loss. Journal of reproductive immunology, 161, 104188. https://doi.org/10.1016/j.jri.2023.104188

81 Riggs, E. R., Andersen, E. F., Cherry, A. M., Kantarci, S., Kearney, H., Patel, A., Raca, G., Ritter, D. I., South, S. T., Thorland, E. C., Pineda-Alvarez, D., Aradhya, S., & Martin, C. L. (2020). Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics, 22(2), 245–257. https://doi.org/10.1038/s41436-019-0686-8

82 Manning, M., Hudgins, L., & Professional Practice and Guidelines Committee (2010). Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics, 12(11), 742–745. https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181f8baad

83 Scionti, F., Di Martino, M. T., Pensabene, L., Bruni, V., & Concolino, D. (2018). The Cytoscan HD Array in the Diagnosis of Neurodevelopmental Disorders. High-throughput, 7(3), 28. https://doi.org/10.3390/ht7030028

84 Haraksingh RR, Abyzov A, Urban AE. Comprehensive performance comparison of high-resolution array platforms for genome-wide Copy Number Variation (CNV) analysis in humans. BMC Genomics. 2017 Apr 24;18(1):321. doi: 10.1186/s12864-017-3658-x. PMID: 28438122; PMCID: PMC5402652.

85 CytoGenomics 5.4 Release Notes Agilent CytoGenomics v5.4.1.3

86 Verified Solutions For Molecular Cytogeneticists Products And Methodologies PerkinElmer

87 Landrum, M. J., Lee, J. M., Benson, M., Brown, G. R., Chao, C., Chitipiralla, S., Gu, B., Hart, J., Hoffman, D., Jang, W., Karapetyan, K., Katz, K., Liu, C., Maddipatla, Z., Malheiro, A., McDaniel, K., Ovetsky, M., Riley, G., Zhou, G., Holmes, J. B., … Maglott, D. R. (2018). ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. Nucleic acids research, 46(D1), D1062–D1067. https://doi.org/10.1093/nar/gkx1153

88 Firth, H. V., Richards, S. M., Bevan, A. P., Clayton, S., Corpas, M., Rajan, D., Van Vooren, S., Moreau, Y., Pettett, R. M., & Carter, N. P. (2009). DECIPHER: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources. American journal of human genetics, 84(4), 524–533. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.03.010

89 Rehm, H. L., Berg, J. S., Brooks, L. D., Bustamante, C. D., Evans, J. P., Landrum, M. J., Ledbetter, D. H., Maglott, D. R., Martin, C. L., Nussbaum, R. L., Plon, S. E., Ramos, E. M., Sherry, S. T., Watson, M. S., & ClinGen (2015). ClinGen--the Clinical Genome Resource. The New England journal of medicine, 372(23), 2235–2242. https://doi.org/10.1056/NEJMsr1406261

90 MacDonald JR, Ziman R, Yuen RK, Feuk L, Scherer SW. The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. Nucleic Acids Res. 2014 Jan;42(Database issue):D986-92. doi: 10.1093/nar/gkt958. Epub 2013 Oct 29. PMID: 24174537; PMCID: PMC3965079.

91 Bagkou Dimakou, D., Tamblyn, J., Justin, C., Coomarasamy, A., & Richter, A. (2022). Diagnosis and management of idiopathic recurrent pregnancy loss (RPL): Current immune testing and immunomodulatory treatment practice in the United Kingdom. Journal of reproductive immunology, 153, 103662. Article 103662. Advance online publication. https://doi.org/10.1016/j.jri.2022.103662

92 Wu, Z., Wang, M., Liang, G., Jin, P., Wang, P., Xu, Y., Qian, Y., Jiang, X., Qian, J., & Dong, M. (2021). Pro-Inflammatory Signature in Decidua of Recurrent Pregnancy Loss Regardless of Embryonic Chromosomal Abnormalities. Frontiers in immunology, 12, 772729. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.772729

93 Woon, E. V., Nikolaou, D., MacLaran, K., Norman-Taylor, J., Bhagwat, P., Cuff, A. O., Johnson, M. R., & Male, V. (2023). Uterine NK cells underexpress KIR2DL1/S1 and LILRB1 in reproductive failure. Frontiers in immunology, 13, 1108163. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1108163

94 Bagkou Dimakou, D., Lissauer, D., Tamblyn, J., Coomarasamy, A., & Richter, A. (2022). Understanding human immunity in idiopathic recurrent pregnancy loss. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology, 270, 17–29. https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.12.024

95 Moustakli, E., Potiris, A., Zikopoulos, A., Drakaki, E., Arkoulis, I., Skentou, C., Tsakiridis, I., Dagklis, T., Drakakis, P., & Stavros, S. (2025). Immunological Factors in Recurrent Pregnancy Loss: Mechanisms, Controversies, and Emerging Therapies. Biology, 14(7), 877. https://doi.org/10.3390/biology14070877

96 Wu, H., Huang, Q., Zhang, X., Yu, Z., & Zhong, Z. (2021). Analysis of Genomic Copy Number Variation in Miscarriages During Early and Middle Pregnancy. Frontiers in genetics, 12, 732419. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.732419

97 Shao, Y., Yang, S., Cheng, L. et al. Identification of chromosomal abnormalities in miscarriages by CNV-Seq. Mol Cytogenet 17, 4 (2024). https://doi.org/10.1186/s13039-024-00671-7

98 Branch D. W., Gibson M., Silver R. M. Clinical practice. Recurrent miscarriage // N. Engl. J. Med. – 2010. – Vol. 363. – P. 1740–1747.

99 Salafia C. M., Minior V. K., Pezzullo J. C. Intrauterine growth restriction in infants of less than thirty-two weeks' gestation: associated placental pathologic features. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1995. – Vol. 173. – P. 1049–57.

100 Oligonucleotide Array-Based CGH for Genomic DNA Analysis - ULS Labeling For Blood, Cells, or Tissues, or FFPE Protocol. Version 4.1, February 2025

101 University of Texas Health Science Center at San Antonio. (n.d.). FISH – Products of Conception. Department of Pathology and Laboratory Medicine. from https://lsom.uthscsa.edu/pathology/reference-labs/clinical-molecular-cytogenetics/fish-products-of-conception/

102 MANUAL chemagic™ Prepito® DNA Blood600 Kit Product number: CMG-Reagents for 180 extractions Version: 240205 EN GTIN 4260543361976 Manufacturer: Revvity chemagen Technologie GmbH Arnold-Sommerfeld-Ring 2 52499 Baesweiler, Germany www.revvity.com

103 Oligonucleotide Array-Based CGH for Genomic DNA Analysis - Enzymatic Labeling For Blood, Cells, or Tissues (with a High Throughput option) Protocol For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. Version 8.1, April 2025F

104 Harris, C. R., Millman, K. J., van der Walt, S. J., Gommers, R., Virtanen, P., Cournapeau, D., Wieser, E., Taylor, J., Berg, S., Smith, N. J., Kern, R., Picus, M., Hoyer, S., van Kerkwijk, M. H., Brett, M., Haldane, A., Del Río, J. F., Wiebe, M., Peterson, P., Gérard-Marchant, P., … Oliphant, T. E. (2020). Array programming with NumPy. Nature, 585(7825), 357–362. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2649-2

105 Xu et al., (2020). IPART: A Python Package for Image-Processing based Atmospheric River Tracking. Journal of Open Source Software, 5(55), 2407. https://doi.org/10.21105/joss.02407

106 Кодекс Республики Казахстан от 7 июля 2020 года № 360-VI «О здоровье народа и системе здравоохранения» (с изменениями и дополнениями по состоянию на 16.09.2025 г.) https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=34464437&show_di=1

107 Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 26 мая 2023 года № 89. О внесении изменений в приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 11 декабря 2020 года № ҚР ДСМ-248/2020 "Об утверждении правил проведения клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий, клинико-лабораторных испытаний медицинских изделий для диагностики вне живого организма (in vitro) и требования к клиническим базам и оказания государственной услуги Выдача разрешения на проведение клинического исследования и (или) испытания фармакологических и лекарственных средств, медицинских изделий" https://adilet.zan.kz/rus/docs/V2300032607#z6

108 Закон Республики Казахстан от 21 мая 2013 года № 94-V «О персональных данных и их защите» (с изменениями и дополнениями по состоянию на 16.09.2025 г.) https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=31396226&doc_id2=31396234#pos=3;-109&sel_link=1003498163

109 Fang, T., Ji, X., Su, Z., Zhang, A., Zhu, L., Tang, J., Mai, Z., Lin, H., Ouyang, N., & Chen, H. (2024). Risk factors associated with pregnancy outcomes in patients with recurrent pregnancy loss after treatment. BMC pregnancy and childbirth, 24(1), 827. https://doi.org/10.1186/s12884-024-07048-z

110 Yao H, Ji Y, Zhou Y. Analysis of blood coagulation indexes, thromboelastogram and autoantibodies in patients with recurrent pregnancy loss. Pak J Med Sci. 2022 Sep-Oct;38(7):2005-2010. doi: 10.12669/pjms.38.7.6284. PMID: 36246723; PMCID: PMC9532661.

111 Krivega M, Stiefel CM, Storchova Z. Consequences of chromosome gain: A new view on trisomy syndromes. Am J Hum Genet. 2022 Dec 1;109(12):2126-2140. doi: 10.1016/j.ajhg.2022.10.014. PMID: 36459979; PMCID: PMC9808507.

112 Choi TY, Lee HM, Park WK, Jeong SY, Moon HS. Spontaneous abortion and recurrent miscarriage: A comparison of cytogenetic diagnosis in 250 cases. Obstet Gynecol Sci. 2014 Nov;57(6):518-25. doi: 10.5468/ogs.2014.57.6.518. Epub 2014 Nov 20. PMID: 25469342; PMCID: PMC4245347.

113 Joe Leigh Simpson, Eric R.M. Jauniaux, Chapter 27 - Early Pregnancy Loss and Stillbirth, Editor(s): Steven G. Gabbe, Jennifer R. Niebyl, Joe Leigh Simpson, Mark B. Landon, Henry L. Galan, Eric R.M. Jauniaux, Deborah A. Driscoll, Vincenzo Berghella, William A. Grobman, Obstetrics: Normal and Problem Pregnancies (Seventh Edition), Elsevier, 2017, Pages 578-594, ISBN 9780323321082, https://doi.org/10.1016/B978-0-323-32108-2.00027-5.

114 Katsidi, C., Tsarouha, H., Kouvidi, E., Lazaros, L., Pantos, K., Sfakianoudis, K., Pantou, A., Kanavakis, E., Mavrou, A., & Makrythanasis, P. (2025). Numerical and structural chromosomal anomalies in first trimester products of conception. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology, 311, 114005. https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2025.114005

115 Hamid, M. A., Mehta, M. C., & Kuppermann, B. D. (2018). Multimodal imaging in a patient with Prader-Willi syndrome. International journal of retina and vitreous, 4, 45. https://doi.org/10.1186/s40942-018-0147-6

116 Jana NR. Understanding the pathogenesis of Angelman syndrome through animal models. Neural Plast. 2012;2012:710943. doi: 10.1155/2012/710943. Epub 2012 Jul 8. PMID: 22830052; PMCID: PMC3399338.

117 Kline, A.D., Moss, J.F., Selicorni, A. et al. Diagnosis and management of Cornelia de Lange syndrome: first international consensus statement. Nat Rev Genet 19, 649–666 (2018). https://doi.org/10.1038/s41576-018-0031-0

118 Raam MS, Solomon BD, Muenke M. Holoprosencephaly: a guide to diagnosis and clinical management. Indian Pediatr. 2011 Jun;48(6):457-66. doi: 10.1007/s13312-011-0078-x. PMID: 21743112; PMCID: PMC4131946.

119 Klimkowski S, Ibrahim M, Ibarra Rovira JJ, Elshikh M, Javadi S, Klekers AR, Abusaif AA, Moawad AW, Ali K, Elsayes KM. Peutz-Jeghers Syndrome and the Role of Imaging: Pathophysiology, Diagnosis, and Associated Cancers. Cancers (Basel). 2021 Oct 13;13(20):5121. doi: 10.3390/cancers13205121. PMID: 34680270; PMCID: PMC8533703.

120 Gu Chongjuan , Gao Huan , Li Kuanrong , Dai Xinyu , Yang Zhao , Li Ru , Wen Canliang , He Yaojuan. Copy Number Variation Analysis of Euploid Pregnancy Loss. Frontiers in Genetics. Volume 13. (2022) https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2022.766492 DOI: 10.3389/fgene.2022.766492

121 Czakó M, Till Á, Zima J, Zsigmond A, Szabó A, Maász A, Melegh B and Hadzsiev K (2021) Xp11.2 Duplication in Females: Unique Features of a Rare Copy Number Variation. Front. Genet. 12:635458. doi: 10.3389/fgene.2021.635458

122 Shen, J., Wu, W., Gao, C., Ochin, H., Qu, D., Xie, J., Gao, L., Zhou, Y., Cui, Y., & Liu, J. (2016). Chromosomal copy number analysis on chorionic villus samples from early spontaneous miscarriages by high throughput genetic technology. Molecular cytogenetics, 9, 7. https://doi.org/10.1186/s13039-015-0210-z

123 Zhuang, J., Fu, W., Gu, L., Ye, X., Wang, J., & Chen, C. (2025). Etiological diagnosis of miscarriage by combining use of chromosomal microarray analysis and whole-exome sequencing. European journal of medical research, 30(1), 528. https://doi.org/10.1186/s40001-025-02709-x

124 Hassold, T., & Hunt, P. (2001). To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. Nature reviews. Genetics, 2(4), 280–291. https://doi.org/10.1038/35066065

125 Menasha, J., Levy, B., Hirschhorn, K., & Kardon, N. B. (2005). Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: new insights from a 12-year study. Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics, 7(4), 251–263. https://doi.org/10.1097/01.gim.0000160075.96707.04

126 Nagaishi, M., Yamamoto, T., Iinuma, K., Shimomura, K., Berend, S. A., & Knops, J. (2004). Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan. The journal of obstetrics and gynaecology research, 30(3), 237–241. https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2004.00191.x

127 Sparks, T. N., Thao, K., & Norton, M. E. (2017). Mosaic trisomy 16: what are the obstetric and long-term childhood outcomes?. Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics, 19(10), 1164–1170. https://doi.org/10.1038/gim.2017.23

128 T. Heinrich; I. Nanda; M. Rehn; U. Zollner; E. Frieauff; J. Wirbelauer; T. Grimm; M. Schmid. Live-Born Trisomy 22: Patient Report and Review. Mol Syndromol (2013) 3 (6): 262–269. https://doi.org/10.1159/000346189

129 Kolate, D., Bhattacharjee, N., Suryarao, P., & Sansare, S. (2024). Genetic Insights Into Early Pregnancy Loss: A Case Study of Trisomy 22 and an Enlarged Yolk Sac. Cureus, 16(8), e67360. https://doi.org/10.7759/cureus.67360

130 Kolate, D., Bhattacharjee, N., Suryarao, P., & Sansare, S. (2024). Genetic Insights Into Early Pregnancy Loss: A Case Study of Trisomy 22 and an Enlarged Yolk Sac. Cureus, 16(8), e67360. https://doi.org/10.7759/cureus.67360

131 Trevisan, V., Meroni, A., Leoni, C., Sirchia, F., Politano, D., Fiandrino, G., Giorgio, V., Rigante, D., Limongelli, D., Perri, L., Sforza, E., Leonardi, F., Viscogliosi, G., Contaldo, I., Orteschi, D., Proietti, L., Zampino, G., & Onesimo, R. (2024). Trisomy 22 Mosaicism from Prenatal to Postnatal Findings: A Case Series and Systematic Review of the Literature. Genes, 15(3), 346. https://doi.org/10.3390/genes15030346

132 Papamichail, M., Eleftheriades, A., Manolakos, E., Papamichail, A., Christopoulos, P., Manegold-Brauer, G., & Eleftheriades, M. (2024). Prenatal diagnosis of 18p deletion and 8p trisomy syndrome: literature review and report of a novel case. BMC women's health, 24(1), 241. https://doi.org/10.1186/s12905-024-03081-4

133 Fan, L., Wu, J., Wu, Y., Shi, X., Xin, X., Li, S., Zeng, W., Deng, D., Feng, L., Chen, S., & Xiao, J. (2020). Analysis of Chromosomal Copy Number in First-Trimester Pregnancy Loss Using Next-Generation Sequencing. Frontiers in genetics, 11, 545856. https://doi.org/10.3389/fgene.2020.545856

134 Drozdov, G. V., Kashevarova, A. A., & Lebedev, I. N. (2025). Copy number variations in spontaneous abortions: a meta-analysis. Journal of assisted reproduction and genetics, 42(4), 1039–1052. https://doi.org/10.1007/s10815-025-03420-w

135 Aktas D, Weise A, Utine E, Alehan D, Mrasek K, von Eggeling F, Thieme H, Tuncbilek E, Liehr T. Clinically abnormal case with paternally derived partial trisomy 8p23.3 to 8p12 including maternal isodisomy of 8p23.3: a case report. Mol Cytogenet. 2009 Jun 30;2:14. doi: 10.1186/1755-8166-2-14. PMID: 19566937; PMCID: PMC2715415.

136 Marafie, M. Partial duplication of chromosome 8p: Report of 5 patients and review of literature. 2007 Egyptian Journal of Medical Human Genetics.

137 Taulavičiūtė G., Česaitytė K., Jokšas A., Serapinienė A., Serapinas D. Genetic causes of recurrent miscarriages // Sveikotas mokslai = Health Sciences in Eastern Europe. – 2026. – Vol. 26, No. 4. – P. 61-64. DOI: http://doi.org/10.5200/sm-hs.2016.059

138 Chunduri, N. K., Barthel, K., & Storchova, Z. (2022). Consequences of Chromosome Loss: Why Do Cells Need Each Chromosome Twice? Cells, 11(9), 1530. https://doi.org/10.3390/cells11091530

139 Bastos, R., Ramalho, C., & Dória, S. (2014). Estudo da prevalência de anomalias cromossómicas em abortamentos espontâneos ou mortes fetais [Prevalence of chromosomal abnormalities in spontaneous abortions or fetal deaths]. Acta medica portuguesa, 27(1), 42–48.

140 van den Berg, M. M., van Maarle, M. C., van Wely, M., & Goddijn, M. (2012). Genetics of early miscarriage. Biochimica et biophysica acta, 1822(12), 1951–1959. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.07.001

141 Hardy, K., & Hardy, P. J. (2015). 1(st) trimester miscarriage: four decades of study. Translational pediatrics, 4(2), 189–200. https://doi.org/10.3978/j.issn.2224-4336.2015.03.05

142 Grande, M., Stergiotou, I., Pauta, M., Marquès, B., Badenas, C., Soler, A., Yaron, Y., & Borrell, A. (2019). Parental Origin of the Retained X Chromosome in Monosomy X Miscarriages and Ongoing Pregnancies. Fetal diagnosis and therapy, 45(2), 118–124. https://doi.org/10.1159/000480499

143 Hook, E. B., & Warburton, D. (2014). Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45,X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss. Human genetics, 133(4), 417–424. https://doi.org/10.1007/s00439-014-1420-x

144 Suntharalingham, J. P., Del Valle, I., Buonocore, F., McGlacken-Byrne, S. M., Brooks, T., Ogunbiyi, O. K., Liptrot, D., Dunton, N., Madhan, G. K., Metcalfe, K., Nel, L., Marshall, A. R., Ishida, M., Sebire, N. J., Moore, G. E., Crespo, B., Solanky, N., Conway, G. S., & Achermann, J. C. (2025). The transcriptomic landscape of monosomy X (45,X) during early human fetal and placental development. Communications biology, 8(1), 249. https://doi.org/10.1038/s42003-025-07699-4

145 Reddy K. S. (1997). Double trisomy in spontaneous abortions. Human genetics, 101(3), 339–345. https://doi.org/10.1007/s004390050638

146 Korucuoglu, U., Erdem, M., Pala, E., Karaoguz, M. Y., Erdem, A., & Biri, A. (2008). Double aneuploidy in spontaneous miscarriages: two case reports and review of the literature. Fetal diagnosis and therapy, 24(2), 106–110. https://doi.org/10.1159/000142138

147 Subramaniyam S, Pulijaal VR, Mathew S. Double and multiple chromosomal aneuploidies in spontaneous abortions: A single institutional experience. J Hum Reprod Sci. 2014 Oct-Dec;7(4):262-8. doi: 10.4103/0974-1208.147494. PMID: 25624662; PMCID: PMC4296400.

148 Yakut, S., Toru, H. S., Çetin, Z., Özel, D., Şimşek, M., Mendilcioğlu, İ., & Lüleci, G. (2015). Chromosome abnormalities identified in 457 spontaneous abortions and their histopathological findings. Turk patoloji dergisi, 31(2), 111–118. https://doi.org/10.5146/tjpath.2015.01303

149 Nagaoka, S. I., Hassold, T. J., & Hunt, P. A. (2012). Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. Nature reviews. Genetics, 13(7), 493–504. https://doi.org/10.1038/nrg3245

150 Wang, Y., Li, Y., Chen, Y., Zhou, R., Sang, Z., Meng, L., Tan, J., Qiao, F., Bao, Q., Luo, D., Peng, C., Wang, Y.S., Luo, C., Hu, P. and Xu, Z. (2020), Systematic analysis of copy-number variations associated with early pregnancy loss. Ultrasound Obstet Gynecol, 55: 96-104. https://doi.org/10.1002/uog.20412

151 Nowaczyk, M. J., Teshima, I. E., Siegel-Bartelt, J., & Clarke, J. T. (1997). Deletion 4q21/4q22 syndrome: two patients with de novo 4q21.3q23 and 4q13.2q23 deletions. American journal of medical genetics, 69(4), 400–405.

152 Asiri, A., Aloyouni, E., Umair, M., Alyafee, Y., Al Tuwaijri, A., Alhamoudi, K. M., Almuzzaini, B., Al Baz, A., Alwadaani, D., Nashabat, M., & Alfadhel, M. (2020). Mutated RAP1GDS1 causes a new syndrome of dysmorphic feature, intellectual disability & speech delay. Annals of clinical and translational neurology, 7(6), 956–964. https://doi.org/10.1002/acn3.51059

153 Bertoli-Avella, A. M., Kandaswamy, K. K., Khan, S., Ordonez-Herrera, N., Tripolszki, K., Beetz, C., Rocha, M. E., Urzi, A., Hotakainen, R., Leubauer, A., Al-Ali, R., Karageorgou, V., Moldovan, O., Dias, P., Alhashem, A., Tabarki, B., Albalwi, M. A., Alswaid, A. F., Al-Hassnan, Z. N., Alghamdi, M. A., … Bauer, P. (2021). Combining exome/genome sequencing with data repository analysis reveals novel gene-disease associations for a wide range of genetic disorders. Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics, 23(8), 1551–1568. https://doi.org/10.1038/s41436-021-01159-0

154 Eto, K., Sakai, N., Shimada, S., Shioda, M., Ishigaki, K., Hamada, Y., Shinpo, M., Azuma, J., Tominaga, K., Shimojima, K., Ozono, K., Osawa, M., & Yamamoto, T. (2013). Microdeletions of 3p21.31 characterized by developmental delay, distinctive features, elevated serum creatine kinase levels, and white matter involvement. American journal of medical genetics. Part A, 161A(12), 3049–3056. https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36156

155 Lovrecic, L., Bertok, S., & Žerjav Tanšek, M. (2016). A New Case of an Extremely Rare 3p21.31 Interstitial Deletion. Molecular syndromology, 7(2), 93–98. https://doi.org/10.1159/000445227

156 Parra, A., Rabin, R., Pappas, J., Pascual, P., Cazalla, M., Arias, P., Gallego-Zazo, N., Santana, A., Arroyo, I., Artigas, M., Pachajoa, H., Alanay, Y., Akgun-Dogan, O., Ruaud, L., Couque, N., Levy, J., Porras-Hurtado, G. L., Santos-Simarro, F., Ballesta-Martinez, M. J., ... Lapunzina, P. (2023). Clinical Heterogeneity and Different Phenotypes in Patients with SETD2 Variants: 18 New Patients and Review of the Literature. Genes, 14(6), 1179. https://doi.org/10.3390/genes14061179

157 Zhang, Y., Zhang, H., Wu, W., Wang, D., Lv, Y., Zhao, D., Wang, L., Liu, Y., & Zhang, K. (2023). Clinical and genetic features of luscan-lumish syndrome associated with a novel de novo variant of SETD2 gene: Case report and literature review. Frontiers in genetics, 14, 1081391. https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1081391

158 Karim, S., Jamal, H. S., Rouzi, A., Ardawi, M. S. M., Schulten, H. J., Mirza, Z., Alansari, N. A., Al-Quaiti, M. M., Abusamra, H., Naseer, M. I., Turki, R., Chaudhary, A. G., Gari, M., Abuzenadah, A. M., & Al-Qhatani, M. H. (2017). Genomic answers for recurrent spontaneous abortion in Saudi Arabia: An array comparative genomic hybridization approach. Reproductive biology, 17(2), 133–143. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2017.03.003

159 Sestari SJ, Gamba BF, Ferreira FPF, Curado RMOF, Castro EC, Bérgamo NA, Ribeiro-Bicudo LA. Copy number variations as a risk factor for couples with idiopathic recurrent miscarriage: A systematic review. Hum Reprod Arch. 2022;37:e000821. doi:10.4322/hra.000821

160 Tersigni, C., Meli, F., Neri, C., Iacoangeli, A., Franco, R., Lanzone, A., Scambia, G., & Di Simone, N. (2020). Role of Human Leukocyte Antigens at the Feto-Maternal Interface in Normal and Pathological Pregnancy: An Update. International journal of molecular sciences, 21(13), 4756. https://doi.org/10.3390/ijms21134756

161 Palumbi, R., Ponzi, E., Micella, S., Pascali, M., Bucci, R., Gentile, M., Margari, L., & Simone, M. (2024). Clinical phenotype of the 16p.13.11 microdeletion: a case report with a mini review of the literature. Frontiers in genetics, 15, 1429185. https://doi.org/10.3389/fgene.2024.1429185

162 Cai, M., Que, Y., Chen, X., Chen, Y., Liang, B., Huang, H., Xu, L., & Lin, N. (2022). 16p13.11 microdeletion/microduplication in fetuses: investigation of associated ultrasound phenotypes, genetic anomalies, and pregnancy outcome follow-up. BMC pregnancy and childbirth, 22(1), 913. https://doi.org/10.1186/s12884-022-05267-w

163 Hannes FD, Sharp AJ, Mefford HC, de Ravel T, Ruivenkamp CA, Breuning MH, Fryns JP, Devriendt K, Van Buggenhout G, Vogels A, Stewart H, Hennekam RC, Cooper GM, Regan R, Knight SJ, Eichler EE, Vermeesch JR. Recurrent reciprocal deletions and duplications of 16p13.11: the deletion is a risk factor for MR/MCA while the duplication may be a rare benign variant. J Med Genet.

2009 Apr;46(4):223-32. doi: 10.1136/jmg.2007.055202. Epub 2008 Jun 11. PMID: 18550696; PMCID: PMC2658752.

164 Bieth, E., Eddiry, S., Gaston, V., Lorenzini, F., Buffet, A., Conte Auriol, F., Molinas, C., Cailley, D., Rooryck, C., Arveiler, B., Cavaillé, J., Salles, J. P., & Tauber, M. (2015). Highly restricted deletion of the SNORD116 region is implicated in Prader-Willi Syndrome. European journal of human genetics : EJHG, 23(2), 252–255. https://doi.org/10.1038/ejhg.2014.103

165 Buiting K. (2010). Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome. American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics, 154C(3), 365–376. https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30273

166 Bagheri, H., Mercier, E., Qiao, Y., Stephenson, M. D., & Rajcan-Separovic, E. (2015). Genomic characteristics of miscarriage copy number variants. Molecular human reproduction, 21(8), 655–661. https://doi.org/10.1093/molehr/gav030

167 Tong Q. (2024). 儿童 Peutz-Jeghers 综合征研究现状 [Current research status of Peutz-Jeghers syndrome in children]. Zhongguo dang dai er ke za zhi = Chinese journal of contemporary pediatrics, 26(10), 1122–1126. https://doi.org/10.7499/j.issn.1008-8830.2404054

168 Amru, R. L., & Dhok, A. (2024). Peutz-Jeghers Syndrome: A Comprehensive Review of Genetics, Clinical Features, and Management Approaches. Cureus, 16(4), e58887. https://doi.org/10.7759/cureus.58887

169 Webb, C. F., Bryant, J., Popowski, M., Allred, L., Kim, D., Harriss, J., Schmidt, C., Miner, C. A., Rose, K., Cheng, H. L., Griffin, C., & Tucker, P. W. (2011). The ARID family transcription factor bright is required for both hematopoietic stem cell and B lineage development. Molecular and cellular biology, 31(5), 1041–1053. https://doi.org/10.1128/MCB.01448-10

170 Yant, L. J., Ran, Q., Rao, L., Van Remmen, H., Shibatani, T., Belter, J. G., Motta, L., Richardson, A., & Prolla, T. A. (2003). The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults. Free radical biology & medicine, 34(4), 496–502. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)01360-6

171 Kaji, K., Caballero, I. M., MacLeod, R., Nichols, J., Wilson, V. A., & Hendrich, B. (2006). The NuRD component Mbd3 is required for pluripotency of embryonic stem cells. Nature cell biology, 8(3), 285–292. https://doi.org/10.1038/ncb1372

172 Tam WL, Lim CY, Han J, Zhang J, Ang YS, Ng HH, Yang H, Lim B. T-cell factor 3 regulates embryonic stem cell pluripotency and self-renewal by the transcriptional control of multiple lineage pathways. Stem Cells. 2008 Aug;26(8):2019-31. doi: 10.1634/stemcells.2007-1115. Epub 2008 May 8. PMID: 18467660; PMCID: PMC2692055.

173 Serra, G., Felice, S., Antona, V., Di Pace, M. R., Giuffrè, M., Piro, E., & Corsello, G. (2022). Cardio-facio-cutaneous syndrome and gastrointestinal defects: report on a newborn with 19p13.3 deletion including the MAP 2 K2 gene. Italian journal of pediatrics, 48(1), 65. https://doi.org/10.1186/s13052-022-01241-6

174 Silvera Redondo, C., Avendaño Capriles, C. A., Fernández Sánchez, D., David Espinosa, R., & Acostamadiedo Marx, A. S. (2021). 19p13.3 Deletion With Polyotia: A Case Report and Literature Review. Cureus, 13(11), e19661. https://doi.org/10.7759/cureus.19661

175 RareChromosome Disorder Support Group. 19p13.3 microdeletions FTNW.

176 Palumbo P, Palumbo O, Leone MP, Stallone R, Palladino T, Zelante L, Carella M. Clinical and molecular characterization of a de novo 19p13.3 microdeletion. Mol Cytogenet. 2016 May 27;9:40. doi: 10.1186/s13039-016-0252-x. PMID: 27239227; PMCID: PMC4882821.

177 Lin, D., Fang, T., Lin, L., He, Y., Quan, H., Yang, J., Chen, K., & Wei, W. (2021). A de novo pure 21q22.3 deletion in a 9-year-old boy with buried penis: a case report and literature review. Translational pediatrics, 10(10), 2621–2629. https://doi.org/10.21037/tp-21-377

178 Sun, H., & Wan, N. (2021). Genotype-Phenotype Analysis of 8q24.3 Duplication and 21q22.3 Deletion in a Chinese Patient and Literature Review. Public health genomics, 24(5-6), 218–228. https://doi.org/10.1159/000515547

179 Solomon, B. D., Mercier, S., Vélez, J. I., Pineda-Alvarez, D. E., Wyllie, A., Zhou, N., Dubourg, C., David, V., Odent, S., Roessler, E., & Muenke, M. (2010). Analysis of genotype-phenotype correlations in human holoprosencephaly. American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics, 154C(1), 133–141. https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30240

180 Traylor, R. N., Bruno, D. L., Burgess, T., Wildin, R., Spencer, A., Ganesamoorthy, D., Amor, D. J., Hunter, M., Caplan, M., Rosenfeld, J. A., Theisen, A., Torchia, B. S., Shaffer, L. G., Ballif, B. C., & Slater, H. R. (2010). A genotype-first approach for the molecular and clinical characterization of uncommon de novo microdeletion of 20q13.33. PloS one, 5(8), e12462. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012462

181 Goto A, Ishii A, Shibata M, Ihara Y, Cooper EC, Hirose S. Characteristics of KCNQ2 variants causing either benign neonatal epilepsy or developmental and epileptic encephalopathy. Epilepsia. 2019 Sep;60(9):1870-1880. doi: 10.1111/epi.16314. Epub 2019 Aug 16. PMID: 31418850; PMCID: PMC11812603.

182 Balasubramanian, M., Atack, E., Smith, K., & Parker, M. J. (2015). A novel de novo 20q13.32-q13.33 deletion in a 2-year-old child with poor growth, feeding difficulties and low bone mass. Journal of human genetics, 60(6), 313–317. https://doi.org/10.1038/jhg.2015.22

183 Rare Chromosome Disorder Support Group. 20q13.33 deletions. RareChromo.org

184 Krantz, I. D., McCallum, J., DeScipio, C., Kaur, M., Gillis, L. A., Yaeger, D., Jukofsky, L., Wasserman, N., Bottani, A., Morris, C. A., Nowaczyk, M. J., Toriello, H., Bamshad, M. J., Carey, J. C., Rappaport, E., Kawauchi, S., Lander, A. D., Calof, A. L., Li, H. H., Devoto, M., … Jackson, L. G. (2004). Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in NIPBL, the human homolog of Drosophila

melanogaster Nipped-B. Nature genetics, 36(6), 631–635. https://doi.org/10.1038/ng1364

185 Liu, J., & Krantz, I. D. (2009). Cornelia de Lange syndrome, cohesin, and beyond. Clinical genetics, 76(4), 303–314. https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2009.01271.x

186 Rachel, R. A., Yamamoto, E. A., Dewanjee, M. K., May-Simera, H. L., Sergeev, Y. V., Hackett, A. N., Pohida, K., Munasinghe, J., Gotoh, N., Wickstead, B., Fariss, R. N., Dong, L., Li, T., & Swaroop, A. (2015). CEP290 alleles in mice disrupt tissue-specific cilia biogenesis and recapitulate features of syndromic ciliopathies. Human molecular genetics, 24(13), 3775–3791. https://doi.org/10.1093/hmg/ddv123

187 Geng, Y., Yu, Q., Sicinska, E., Das, M., Schneider, J. E., Bhattacharya, S., Rideout, W. M., III, Bronson, R. T., Gardner, H., Sicinski, P. Cyclin E ablation in the mouse. Cell 114: 431-443, 2003 DOI: 10.1016/s0092-8674(03)00645-7.

188 Mitrakos, A., Kekou, K., Tilemis, F. N., Svingou, M., Papadimas, G., Sofocleous, C., Traeger-Synodinos, J., & Tzetis, M. (2024). Nablus mask-like facial syndrome: Report of an atypical case with 8q21.3-q22.1 deletion. American journal of medical genetics. Part A, 194(12), e63826. https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63826

189 Giorda R, Bonaglia MC, Beri S, Fichera M, Novara F, Magini P, Urquhart J, Sharkey FH, Zucca C, Grasso R, Marelli S, Castiglia L, Di Benedetto D, Musumeci SA, Vitello GA, Failla P, Reitano S, Avola E, Bisulli F, Tinuper P, Mastrangelo M, Fiocchi I, Spaccini L, Torniero C, Fontana E, Lynch SA, Clayton-Smith J, Black G, Jonveaux P, Leheup B, Seri M, Romano C, dalla Bernardina B, Zuffardi O. Complex segmental duplications mediate a recurrent dup(X)(p11.22-p11.23) associated with mental retardation, speech delay, and EEG anomalies in males and females. Am J Hum Genet. 2009 Sep;85(3):394-400. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.08.001. Epub 2009 Aug 27. Erratum in: Am J Hum Genet. 2009 Sep;85(3):419. PMID: 19716111; PMCID: PMC2771536.

190 Czakó, M., Till, Á., Zima, J., Zsigmond, A., Szabó, A., Maász, A., Melegh, B., & Hadzsiev, K. (2021). Xp11.2 Duplication in Females: Unique Features of a Rare Copy Number Variation. Frontiers in genetics, 12, 635458. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.635458

191 Chung, B. H., Drmic, I., Marshall, C. R., Grafodatskaya, D., Carter, M., Fernandez, B. A., Weksberg, R., Roberts, W., & Scherer, S. W. (2011). Phenotypic spectrum associated with duplication of Xp11.22-p11.23 includes Autism Spectrum Disorder. European journal of medical genetics, 54(5), e516–e520. https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2011.05.008

192 Atli, E. I., Gurkan, H., Atli, E., Vatansever, U., Acunas, B., & Mail, C. (2020). De Novo Subtelomeric 6p25.3 Deletion with Duplication of 6q23.3-q27: Genotype-Phenotype Correlation. Journal of pediatric genetics, 9(1), 32–39. https://doi.org/10.1055/s-0039-1694703

193 Rare Chromosome Disorder Support Group. Duplications of 6q.

194 Grati, F. R., Lalatta, F., Turolla, L., Cavallari, U., Gentilin, B., Rossella, F., Cetin, I., Antonazzo, P., Bellotti, M., Dulcetti, F., Baldo, D., Tenconi, R., Simoni, G., & Miozzo, M. (2005). Three cases with de novo 6q imbalance and variable

prenatal phenotype. American journal of medical genetics. Part A, 136(3), 254–258. https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30837

195 Rare Chromosome Disorder Support Group. 6q deletions from 6q25.

196 Peña-Padilla, C., Martínez-Ceccopieri, D. A., García-Hernández, E. M., Bobadilla-Morales, L., & Corona-Rivera, J. R. (2025). Prenatal Diagnosis of 6q Terminal Deletion Associated with Coffin–Siris Syndrome: Phenotypic Delineation and Review. Genes, 16(11), 1365. https://doi.org/10.3390/genes16111365

197 Министерство здравоохранения Республики Казахстан. Невынашивание беременности: клинический протокол диагностики и лечения. Одобрен Объединённой комиссией по качеству медицинских услуг 28 июля 2023 года, протокол №185.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Монография «Генетика идиопатической формы невынашивания беременности»



ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Свидетельство об авторском праве



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

СВИДЕТЕЛЬСТВО

О ВНЕСЕНИИ СВЕДЕНИЙ В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР ПРАВ НА ОБЪЕКТЫ, ОХРАНЯЕМЫЕ АВТОРСКИМ ПРАВОМ

№ 64953 от «4» декабря 2025 года

Фамилия, имя, отчество, (если оно указано в документе, удостоверяющем личность) автора (ов):
САДЫРБЕКОВА АЙГЕРИМ ТОЛЕГЕНОВНА, Святова Гульнара Салаватовна, Березина Галина Михайловна

Вид объекта авторского права: **произведение науки**

Название объекта: **Клинико-диагностический алгоритм молекулярно-генетического исследования фетального генома при идиопатическими привычном невынашивании беременности**

Дата создания объекта: **01.09.2025**

ҚР ҰЛТТЫҚ ЗИЯТКЕРЛІК МЕНШІК ИНСТИТУТЫ
РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности» МЮ РК

Құжат түпнұсқалығын http://www.kazpatent.kz/ru сайтының "Авторлық құқық" бөлімінде тексеруге болады https://copyright.kazpatent.kz

Подлинность документа возможно проверить на сайте kazpatent.kz в разделе «Авторское право» https://copyright.kazpatent.kz

Подписано ЭЦП А. Артыкова

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Акт внедрения «Алгоритм молекулярно-генетической диагностики фетального генома при идиопатическом привычном невынашивания беременности»

ЖШС «Молекулярлық медицина орталығы»

ТОО «Центр молекуляр медицины»

Версия: 1	НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ОТДЕЛ	05-ДП-10
	АКТ ВНЕДРЕНИЯ	Страница 1 из 3

Утверждаю
Генеральный директор
ТОО «Центр молекулярной медицины»
_____ Г. Сагнаева
«___» _____20___ года

Акт внедрения №1/2025
Внедрение результатов научно-исследовательской работы
«Алгоритм молекулярно-генетической диагностики фетального генома при идиопатическом привычном невынашивании беременности»

Внедрение результатов научно-исследовательской работы

«Алгоритм молекулярно-генетической диагностики фетального генома при идиопатическом привычном невынашивании беременности»

1. Авторы (соавторы) внедрения ФИО:
Врач-генетик Садырбекова Айгерим Толегеновна
д.м.н, профессор Святова Гульнара Салаватовна
д.б.н. профессор Березина Галина Михайловна

2. Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и(или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности:

«Клинико-диагностический алгоритм молекулярно-генетического исследования фетального генома при идиопатическоми привычном невынашивании беременности».

3. Краткая аннотация.

Работа включена из результатов НИР по теме:

«Молекулярно-генетическое исследование фетального генома при идиопатическом привычном невынашивании беременности».

Клинико-диагностический алгоритм обследования при идиопатическом привычном невынашивании беременности представляет собой последовательность этапов, направленных на выявление хромосомных причин репродуктивных потерь методом хромосомного микроматричного анализа. Алгоритм включает первичное клинико-лабораторное обследование, предтестовое консультирование, проведение ХМА абортного материала, интерпретацию выявленных CNV и анеуплоидий, а также посттестовое консультирование с формированием генетического паспорта пары и определением тактики ведения последующей беременности.

4. Эффективность внедрения:

Внедрение алгоритма обеспечивает повышение диагностической точности, сокращение времени до получения клинически значимого результата и улучшает преемственность между клиническим звеном и лабораторией. Стандартизация процесса повышает качество консультирования семей и способствует формированию единых подходов к ведению пациентов с иПНБ.

5. Место и время внедрения: ТОО «Центр молекулярной медицины» г. Алматы, 2025 год.

6. Форма внедрения: Свидетельство о внесении в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом № 64953 от 04.12.2025 «Клинико-диагностический алгоритм молекулярно-генетического исследования фетального генома при идиопатическоми привычном невынашивании беременности».

Эффективность внедрения: диагностическая

Сроки внедрения: 2025 год

Руководитель научно-образовательного отдела ТОО «Центр молекулярной медицины»: д.м.н. профессор Святова Г.С.

Заведующая отделением медико-генетического консультирования с медицинской лабораторией ТОО «Центр молекулярной медицины»: Ге А.В.

Ответственные за внедрение: Садырбекова А.Т.

Генеральный директор ТОО «Центр Молекулярной Медицины»: Сагнаева Г.А.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Заключение Локальной комиссии по биоэтике

№ 41 Заключение Локальной комиссии по биоэтике
НАО "Медицинский университет Астана"
от 08.12.2025 г.

1.	ФИО докторанта	Садырбекова Айгерим Толегеновна
2.	Специальность (образовательная программа) докторантуры	8D10102-Медицина
3.	Период обучения в докторантуре	2022-2025
4.	Тема диссертации, дата утверждения	Молекулярно-генетическое исследование фетального генома при идиопатическом привычном невынашивании беременности
5.	Данные о научных консультантах - Ф.И.О. (при его наличии), должности и места работы, ученые степени, гражданство	Руководитель - Святова Гульнара Салаватовна – Д.м.н, профессор, заведующая Республиканской медико-генетической консультацией Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии. Научый консультант - Березина Галина Михайловна - д.б.н., ВНС РеспМГК Зарубежный консультант - Канивец Илья Вячеславович - к.м.н., руководитель отдела генетики медико-генетического центра «Геномед». Доцент кафедры медицинской генетики Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования.
6.	Объекты исследования	Абортный материал женщин с иПНБ
7.	Нарушения в процессе планирования, оценки, отбора и проведения научных исследований	Нарушения не выявлены.
8.	Нарушения в процессе распространения результатов научных исследований	Нарушения не выявлены.
9.	Каким образом проводилась защита прав, безопасности и благополучия объектов исследования (в случае наличия объектов живой природы и среды обитания)?	Полученные данные (включая фотографии и персональные медицинские данные пациентов) хранились на Google Диске в зашифрованном виде с помощью пароля. Доступ к ним имел только исследователь при помощи персонального

	компьютера, исключающего возможность внешнего доступа к информации. Они не передавались другим лицам иначе, как с ясно выраженного согласия участника.

Председатель ЛКБ _____
(подпись, фамилия, имя, отчество (при его наличии))

Секретарь ЛКБ _____
(подпись, фамилия, имя, отчество (при его наличии))

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Алгоритм диагностики фетального материала при иПНБ

