АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Садырбековой Айгерим Толегеновны на тему «Молекулярно-генетическое исследование фетального генома при идиопатическом привычном невынашивании беременности» на соискание степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 8D10102 – «Медицина»

Актуальность исследования

Охрана здоровья матери и ребенка относится к приоритетным направлениям Концепции развития здравоохранения Республики Казахстан на 2022-2029 годы (Правительство Республики Казахстан 2022). Привычное невынашивание беременности (ПНБ), затрагивающее до 3% женщин репродуктивного возраста, остается одной из актуальных проблем репродуктивной медицины (Yang et al. 2024; Cao et al. 2022; Chester et al. 2022). К установленным причинам ПНБ относятся хромосомные патологии эмбриона, носительство сбалансированных транслокаций у родителей, анатомические аномалии матки, иммунологические факторы, тромбофилии, инфекции и эндокринные заболевания (Turesheva et al. 2023; Vomstein et al. 2021; Regan et al. 2023). Согласно рекомендациям Американского общества репродуктивной медицины (ASRM), ПНБ характеризуется двумя и более потерями клинически подтвержденных беременностей (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2013). Оценка генетических, анатомических, эндокринных и других факторов составляет основу обследования для установления причин повторных потерь (ESHRE Guideline Group on RPL 2023; Roberts et al. 2024).

В работах, посвященных проблеме привычных потерь, отмечают, что более половины эпизодов привычного невынашивания происходит по неустановленной причине (ESHRE Guideline Group on RPL 2023; Святова и соавт., 2019). Такие случаи обозначены в клинической практике как идиопатические. Исследование фетального генома направлено на выявление хромосомных аномалий, которые могут объяснять до 65% ПНБ (Liao et al. 2023; D'Ippolito et al. 2023). Королевский колледж акушеров и гинекологов (RCOG) с этой целью предлагает цитогенетическое исследование абортного материала. (Regan et al. 2023) 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) (ESHRE Guideline Group on RPL 2023). Установление хромосомной патологии абортного материала имеет значение для уточнения причин ПНБ и определения показаний к дальнейшему обследованию супружеской пары (Kutteh et al. 2024).

Возможности выявления структурной патологии фетального генома зависят от разрешающей способности метода диагностики. Стандартное кариотипирование выявляет числовые аномалии и крупные структурные перестройки размером более 5-10 Мб (Reddy et al. 2012). Применение aCGH позволяет выявить вариации числа копийности (CNV) без культивирования клеток. В метаанализе Dhillon et al. дополнительная выявляемость хромосомных аномалий при использовании ХМА составила 13% (95% ДИ 8-21%) (Dhillon et al. 2014). В работе Reddy и соавт. показали эффективность ХМА за счет выявления патогенных микроделеций и дупликаций в 9 (2,6%) случаев с нормальным кариотипом (Reddy et al. 2012). Ozawa и соавт. показали, что одним из преимуществ метода является проверка контаминации материнскими клетками (Ozawa et al. 2016). Вместе с тем, ХМА не выявляет сбалансированные транслокации и имеет ограничения в диагностике низкоуровневого мозаицизма (Regan et al. 2023; ESHRE Guideline Group on RPL 2023).

Несмотря на многочисленные исследования генетических причин ПНБ, применение ХМА при идиопатической форме остается малоизученным. Анализ фетального генома затруднен сложностью получения качественного материала, аутолизом тканей и материнской контаминацией (Liao et al. 2023; Ozawa et al. 2016). В настоящей работе исследованы 100 образцов абортусов от женщин с идиопатической формой ПНБ, что является наиболее большой выборкой. Выявление хромосомных нарушений в фетальном

материале, объясняющих привычные потери, позволяет уточнить их причины и пересмотреть диагноз иПНБ. Полученные данные служат основой для разработки клинико-диагностического алгоритма, обследования супружеской пары и выбора дальнейшей тактики 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.

Научная новизна

1. Впервые выполнено комплексное исследование фетального генома с применением 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 позволило реклассифицировать 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 фетального генома;
4. На основании полученных данных обоснована целесообразность применения aCGH в алгоритме молекулярно-генетического исследования абортного материала при иПНБ.

Практическая значимость полученных результатов.

Обосновано 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.

При выявлении хромосомной патологии в фетальном материале рекомендуется кариотипирование супружеской пары. При подтверждении сбалансированной перестройки предлагается ПГТ-SR и пренатальная диагностика при 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 отсутствии патогенных CNV и анеуплоидий рекомендуется последующий поиск причин привычного невынашивания. Полученные данные используются для разработки персонифицированной программы прегравидарной подготовки и периконцепционной профилактики.

Объект исследования

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

Критерии включения в исследование:

– Женщины в возрасте 18-45 лет;

– Наличие 2 и более ранних самопроизвольных выкидышей согласно рекомендациям Американского общества репродуктивной медицины (ASRM);

– Наличие беременности подтверждено данными УЗИ и ХГЧ.

Критерии исключения из исследования (минимизация фенотипической гетерогенности и исключение известных причин ПНБ):

– Нарушение лютеиновой фазы в результате биопсии эндометрия;

– 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;

– Инфекции, передающихся половым путем (бактериальные инфекции: сифилис, гонорея, и др.; вирусы: гепатиты В и С, вирус простого герпеса и пр; паразитарные и др.), подтвержденные двумя анализами различных биологических материалов (IgG/IgM; ПЦР, мазок; ПЦР Real Time);

– Нарушения функции щитовидной железы по анализам ТТГ и тиреоидных антител.

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. Исследование проводилось проспективным методом. Отбор пациентов в поликлиническом отделении НЦАГиП. Абортный материал от женщин с иПНБ набирали в медицинских учреждениях Республики Казахстан. Полногеномный анализ aCGH проводился в лаборатории «Центра Молекулярной Медицины».

Предмет исследования

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

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 позволил обосновать применение в качестве теста первой линии абортного материала у женщин с иПНБ. ХМА демонстрирует 100% чувствительность для аномалий размером от 0,26 Мб. 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 и дополнительно 12% CNV, что позволило исключить диагноз привычное невынашивание неизвестного генеза. В структуре микрохромосомных нарушений при иПНБ преобладают делеции, составляющие 55,5% выявленных патологий, тогда как дупликации (5,6%) и сочетанные перестройки (5,6%) встречались реже. Выявленные патогенные CNV также включали гены, приводящие к нарушению имплантации, формированию плаценты и развития эмбриона.

4. Разработанный алгоритм молекулярно-генетического обследования при иПНБ включает последовательные этапы предтестового консультирования, aCGH анализа

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

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 исследовании 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%), а числовые анеуплоидии в 33,3%. В 10 (83,3%) из 12 образцов с патогенными CNV перестройки затрагивали гены, участвующие в эмбрио- и плацентогенезе.

У женщин с хромосомными нарушениями в абортном материале среднее число неразвивающихся беременностей в анамнезе было достоверно выше ($p=0,0065$), чем в группе без выявленных аномалий, и составило $0,56\pm0,51$ против $0,28\pm0,61$. Выявлен достоверно меньший ($p=0,0042$) средний срок потери беременности в сроке $6,61\pm1,29$ недель против $8,17\pm1,92$, соответственно. Статистически значимых различий по возрасту женщин, общему количеству беременностей и числу ранних самопроизвольных абортов между группами не установлено.

4. Разработан Алгоритм молекулярно-генетического обследования при ПНБ, 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), алгоритм предусматривает полногеномное исследование фетального материала для выявления анеуплоидий и несбаласированных структурных нарушений, что позволит снизить долю ПНБ неизвестного генеза.

Апробация работы

Диссертационная работа заслушана на предварительной защите на расширенном заседании кафедры «Общественного здоровья и гигиены» НАО «Медицинский Университет Астана», протокол № 8 от 10 апреля 2026 года. Получена положительная оценка на Научном Совете Казахстанского Медицинского Университета«ВШОЗ», протокол № 1 от 17 сентября 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.

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).

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.

Внедрение результатов исследования в практику здравоохранения

Получено авторское свидетельство, зарегистрированное Национальным Институтом интеллектуальной собственности МЮ РК. Результаты данного исследования и алгоритм диагностики пациентов с иПНБ внедрены в практическую работу врачей генетиков ТОО “Центр Молекулярной Медицины”.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен информационно-аналитический обзор зарубежной и отечественной литературы по проблеме идиопатического привычного невынашивания беременности, а также выполнен поиск и анализ 197 источников литературы. Также автор лично провел выделение и измерение концентрации ДНК из ворсин хориона 100 абортного материала и выполнил все этапы хромосомного микроматричного анализа. Самостоятельно проведены статистическая обработка и анализ результатов исследования, а также систематизация и классификация всех выявленных CNV по степени клинической значимости. 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.

Садырбекова Айгерим Толегеновнаның
8D10102 – «Медицина» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынылған «Жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрі кезіндегі феталдық геномды молекулалық-генетикалық зерттеу» тақырыбындағы диссертациялық жұмысының
АҢДАТПАСЫ

Зерттеудің өзектілігі

Ана мен бала денсаулығын қорғау Қазақстан Республикасының денсаулық сақтау саласын дамытудың 2022-2029 жылдарға арналған тұжырымдамасының басым бағыттарының бірі болып табылады (Правительство Республики Казахстан 2022). Репродуктивтік жастағы әйелдер арасында жиілігі 3%-ға дейін жететін жүктіліктің әдеттегі үзілуі (ЖӘҮ) репродуктивтік медицинаның өзекті мәселелерінің бірі болып қалуда (Yang et al. 2024; Cao et al. 2022; Chester et al. 2022). ЖӘҮ-дің анықталған себептеріне эмбрионның хромосомалық патологиялары, ата-аналардың теңгерілген транслокацияларды тасымалдауы, жатырдың анатомиялық аномалиялары, иммунологиялық факторлар, тромбофилиялар, инфекциялар және эндокриндік аурулар жатады (Turesheva et al. 2023; Vomstein et al. 2021; Regan et al. 2023). Американдық репродуктивтік медицина қоғамының (ASRM) ұсынымдарына сәйкес, ЖӘҮ клиникалық тұрғыдан расталған екі немесе одан да көп жүктіліктің үзілуімен сипатталады (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2013). Жүктіліктің қайталама үзілу себептерін анықтауға бағытталған тексерудің негізін генетикалық, анатомиялық, эндокриндік және басқа да факторларды бағалау құрайды (ESHRE Guideline Group on RPL 2023; Roberts et al. 2024).

Жүктіліктің әдеттегі үзілуіне арналған зерттеулерде жағдайлардың жартысынан көбінде оның себебі анықталмайтыны көрсетілген (ESHRE Guideline Group on RPL 2023; Святова и соавт., 2019). Клиникалық тәжірибеде мұндай жағдайлар идиопатиялық деп белгіленеді. Феталдық геномды зерттеу ЖӘҮ жағдайларының 65%-ына дейінгі бөлігінің себебін түсіндіруі мүмкін хромосомалық аномалияларды анықтауға бағытталған (Liao et al. 2023; D'Ippolito et al. 2023). Осы мақсатта Корольдік акушерлер мен гинекологтар колледжі (RCOG) түсік материалын цитогенетикалық зерттеуді ұсынады (Regan et al. 2023). Ал Еуропалық адам репродукциясы және эмбриология қоғамы (ESHRE) түсік материалын генетикалық зерттеу үшін микроматрицалардағы салыстырмалы геномдық гибридизация (aCGH) әдісімен хромосомалық микроматрицалық талдау (ХМТ) жүргізуді ұсынады (ESHRE Guideline Group on RPL 2023). Түсік материалындағы хромосомалық патологияны анықтау ЖӘҮ себептерін нақтылау және ерлі-зайыптыларды әрі қарай тексеруге көрсетілімдерді белгілеу үшін маңызды (Kutteh et al. 2024).

Феталдық геномның құрылымдық патологиясын анықтау мүмкіндігі диагностикалық әдістің ажырату қабілетіне байланысты. Стандартты кариотиптеу хромосомалардың сандық аномалияларын және мөлшері 5-10 Мб-тан асатын ірі құрылымдық қайта құрылымдарды анықтайды (Reddy et al. 2012). aCGH әдісі жасушаларды өсірмей-ақ ДНҚ көшірмелері санының вариацияларын (CNV) анықтауға мүмкіндік береді. Dhillon және әріптестерінің метаталдауында ХМТ қолданған кезде хромосомалық аномалияларды қосымша анықтау жиілігі 13% болған (95% сенімділік аралығы 8-21%) (Dhillon et al. 2014). Reddy және әріптестері кариотипі қалыпты 9 жағдайда (2,6%) патогенді микроделециялар мен дупликацияларды анықтау арқылы ХМТ тиімділігін көрсеткен (Reddy et al. 2012). Ozawa және әріптестері әдістің артықшылықтарының бірі ана жасушаларымен контаминацияны тексеру мүмкіндігі екенін көрсеткен (Ozawa et al. 2016). Сонымен қатар, ХМТ теңгерілген транслокацияларды анықтамайды және төмен деңгейлі мозаицизмді диагностикалауда шектеулері бар (Regan et al. 2023; ESHRE Guideline Group on RPL 2023).

ЖӘҮ-дің генетикалық себептері бойынша зерттеулердің көптігіне қарамастан, оның идиопатиялық түрінде ХМТ қолдану жеткілікті зерттелмеген. Сапалы материал алудың қиындығы, тіндердің аутолизі және ана жасушаларымен контаминациялануы феталдық

геномды талдауды қиындатады (Liao et al. 2023; Ozawa et al. 2016). Осы жұмыста жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрі (иЖӘҮ) бар әйелдерден алынған түсік материалының 100 үлгісі зерттелді. Бұл осы топтағы ең үлкен іріктемені құрайды. Феталдық материалдан жүктіліктің әдеттегі үзілуін түсіндіретін хромосомалық бұзылыстарды анықтау олардың себептерін нақтылауға және иЖӘҮ диагнозын қайта қарауға мүмкіндік береді. Алынған деректер клиникалық-диагностикалық алгоритм әзірлеуге, ерлі-зайыптыларды тексеруге және жүктілікті жоспарлау кезіндегі әрі қарайғы жүргізу тактикасын таңдауға негіз болады.

Зерттеудің мақсаты

Феталдық материалды хромосомалық микроматрицалық талдау арқылы жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрінің себептерін диагностикалау тиімділігін арттыру.

Зерттеудің міндеттері

1. Түсік материалын in situ флуоресценттік гибридизация (FISH) әдісімен зерттеу арқылы хромосомалық анеуплоидиялардың жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрінің этиопатогенезіндегі үлесін анықтау.
2. иЖӘҮ кезінде микроделециялар мен микродупликацияларды анықтау үшін феталдық материалды хромосомалық микроматрицалық талдаудың техникалық орындалу мүмкіндігі мен диагностикалық маңызын бағалау.
3. Жүктіліктің идиопатиялық үзілуі кезінде түсік материалындағы анеуплоидиялар мен микрохромосомалық бұзылыстардың жиілігін анықтау және түсік материалының ХМТ нәтижелеріне қарай әйелдердің клиникалық-анамнездік сипаттамаларын салыстыру.
4. Жүктіліктің әдеттегі үзілуі кезінде хромосомалық микроматрицалық талдау әдісімен хромосомалардың сандық және субмикроскопиялық аномалияларын диагностикалау алгоритмін әзірлеу және негіздеу.

Ғылыми жаңалығы

1. Жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрі бар пациенттерде алғаш рет хромосомалық микроматрицалық талдау арқылы феталдық геномға кешенді зерттеу жүргізілді. Бұл хромосомалық аномалиялар мен CNV-дің иЖӘҮ этиопатогенезіндегі үлесі туралы түсінікті кеңейтуге мүмкіндік берді.
2. иЖӘҮ клиникалық диагнозы қойылған пациенттер тобында түсік материалындағы летальді анеуплоидиялардың жиілігі анықталды. Соның негізінде жүктіліктің үзілу жағдайларының 6%-ы хромосомалық себептермен байланысты жағдайлар ретінде қайта жіктелді.
3. Алғаш рет хромосомалардың субмикроскопиялық аномалияларының спектрі анықталып, осы өзгерістер қамтыған кандидат гендерді талдау арқылы CNV-дің иЖӘҮ этиопатогенезіндегі генетикалық үлесі көрсетілді. Бұл феталдық геномды зерттеуде ХМТ-ның диагностикалық құндылығын растайды.
4. Алынған деректер негізінде иЖӘҮ кезінде түсік материалын молекулалық-генетикалық зерттеу алгоритмінде aCGH әдісін қолданудың орындылығы негізделді.

Алынған нәтижелердің практикалық маңызы

ЖӘҮ-дің хромосомалық себептерін нақтылау үшін феталдық материалға ХМТ жүргізу негізделді. Жүктіліктің әдеттегі үзілуінің хромосомалық себебін анықтау ерлі-зайыптыларды әрі қарай тексеруге көрсетілімдерді белгілеуге және келесі жүктілікті жоспарлау жөніндегі ұсынымдарды негіздеуге мүмкіндік береді.

Феталдық материалда хромосомалық патология анықталған жағдайда ерлі-зайыптыларға кариотиптеу жүргізу ұсынылады. Теңгерілген қайта құрылым расталған кезде құрылымдық қайта құрылымдарға имплантацияға дейінгі генетикалық тестілеу (ПГТ-SR) және келесі жүктілікте пренаталдық диагностика ұсынылады. Зерттеу нәтижелері бойынша ЖӘҮ бар ерлі-зайыптыларды тексерудің клиникалық-диагностикалық алгоритмі әзірленді. Алгоритм медициналық-генетикалық кеңес беруді және одан кейін түсік материалына ХМТ жүргізуді қамтиды. Патогенді CNV мен анеуплоидиялар анықталмаған жағдайда жүктіліктің әдеттегі үзілуінің басқа себептерін іздестіруді жалғастыру ұсынылады. Алынған деректер

прегравидарлық дайындық пен периконцепциялық профилактиканың жеке бағдарламасын әзірлеу үшін пайдаланылады.

Зерттеу нысаны

Зерттеуге жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрі бар әйелдерден алынған түсік материалының 100 үлгісі енгізілді.

Зерттеуге енгізу критерийлері

– 18-45 жастағы әйелдер;

– Американдық репродуктивтік медицина қоғамының (ASRM) ұсынымдарына сәйкес, ерте мерзімде екі немесе одан да көп өздігінен түсік түсуінің болуы;

– Жүктіліктің ультрадыбыстық зерттеу (УДЗ) және адамның хориондық гонадотропинін (АХГ) анықтау нәтижелерімен расталуы.

Зерттеуден шығару критерийлері

Фенотиптік гетерогенділікті азайту және ЖӘҮ-дің белгілі себептерін жоққа шығару үшін мынадай критерийлер қолданылды:

– Эндометрий биопсиясының нәтижелері бойынша анықталған лютеиндік фазаның бұзылысы;

– Гистеросальпингография, гистероскопия немесе соногистероскопия әдістерімен анықталған жатырдың анатомиялық аномалиялары;

– Ерлі-зайыптылардың екеуін де кариотиптеу кезінде анықталған теңгерілген хромосомалық аномалиялар;

– β2-гликопротеин I-ге қарсы антиденелерді (IgG/IgM), кардиолипинге қарсы антиденелерді (IgG/IgM) және жегілік антикоагулянтты зерттеу нәтижелерімен расталған антифосфолипидтік синдром;

– УДЗ арқылы расталған көпұрықты жүктілік;

– Әртүрлі биологиялық материалдарға жасалған екі талдау нәтижесімен (IgG/IgM; полимеразалық тізбекті реакция (ПТР), жағынды; нақты уақыт режиміндегі ПТР) расталған жыныстық жолмен берілетін инфекциялар: бактериялық инфекциялар (мерез, гонорея және т.б.), вирустық инфекциялар (В және С гепатиттері, қарапайым герпес вирусы және т.б.), паразиттік және басқа инфекциялар;

– Тиреотроптық гормон (ТТГ) мен тиреоидтық антиденелерді талдау нәтижелері бойынша анықталған қалқанша безі қызметінің бұзылыстары.

Диссертациялық жұмыс 49019/ПЦФ-МЗСР-ОТ-18 «Бірқатар маңызды ауруларды симптомдар пайда болғанға дейін диагностикалаудың молекулалық-генетикалық тәсілдері және емдеу әдістері» нысаналы бағдарламасының «Қазақ популяциясындағы ерте репродуктивтік жоғалтулардың молекулалық-генетикалық предикторлары мен медициналық-әлеуметтік детерминанттары» бөлімі аясында орындалды. Зерттеу проспективтік әдіспен жүргізілді. Пациенттер Акушерлік, гинекология және перинатология ғылыми орталығының емханалық бөлімшесінде іріктелді. иЖӘҮ бар әйелдерден түсік материалы Қазақстан Республикасының медициналық ұйымдарында жиналды. aCGH әдісімен толық геномдық талдау «Молекулалық медицина орталығының» зертханасында жүргізілді.

Зерттеу пәні

Жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрі бар әйелдердің феталдық материалы геномының молекулалық-генетикалық сипаттамалары.

Қорғауға ұсынылатын негізгі тұжырымдар

1. Тіндердің айқын фрагментациясы мен аутолизі жағдайында түсік материалын FISH әдісімен зерттеудің ақпараттылығы шектеулі. Бұл түсік материалындағы хромосомалық бұзылыстарды диагностикалау үшін сезімталдығы жоғары әдістерге көшу қажеттігін көрсетеді.

2. Хромосомалық микроматрицалық талдауды техникалық тұрғыдан орындау мүмкіндігі иЖӘҮ бар әйелдердің түсік материалын зерттеуде оны бірінші кезектегі диагностикалық тест ретінде қолдануды негіздеуге мүмкіндік берді. ХМТ мөлшері 0,26 Мб

және одан үлкен аномалияларды анықтауда 100% сезімталдық көрсетеді. Әдістің артықшылықтары - жасушаларды өсіруді қажет етпеуі және хромосомалардың субмикроскопиялық аномалияларын анықтауы. Әдістің диагностикалық маңызы 18% құрады.

3. иЖӘҮ бар пациенттердің феталдық материалына алғаш рет жүргізілген aCGH талдауы 6% сандық анеуплоидияны және қосымша 12% CNV-ді анықтауға мүмкіндік берді. Бұл жүктіліктің себебі белгісіз әдеттегі үзілуі диагнозын жоққа шығаруға негіз болды. иЖӘҮ кезіндегі микрохромосомалық бұзылыстар құрылымында анықталған патологиялардың 55,5%-ын құрайтын делециялар басым болды. Дупликациялар (5,6%) мен қосарланған қайта құрылымдар (5,6%) сирек кездесті. Анықталған патогенді CNV құрамына имплантация, плацентаның қалыптасуы және эмбрионның дамуы бұзылыстарына әкелетін гендер де кірді.

4. иЖӘҮ кезінде молекулалық-генетикалық тексерудің әзірленген алгоритмі тестке дейінгі кеңес беру, түсік материалының aCGH талдауы, нәтижелерді интерпретациялау және ата-аналарды тексеру кезеңдерін қамтиды. Алгоритм этиологиялық диагностиканың дәлдігін арттыруға және кейінгі прегравидарлық дайындық пен фолаттар арқылы периконцепциялық профилактиканы ескере отырып, жеке ұсынымдар әзірлеуге мүмкіндік береді.

Қорытындылар

1. Түсік материалының айқын аутолизі анеуплоидияларды диагностикалау үшін FISH қолдануды шектейді. Барлық 40 үлгіде (100%) зерттелетін хромосомалар көшірмелерінің санын бағалау мүмкін болмады. ҚР Денсаулық сақтау министрлігінің «Медициналық қызметтер тарификаторына» сәйкес қолданылған 13, 18, 21, X және Y хромосомаларына арналған зондтар панелі aCGH әдісімен салыстырғанда анықталатын бұзылыстар спектрін шектеді.

2. иЖӘҮ бар әйелдердің түсік материалын зерттеуде ХМТ-ның техникалық орындалу мүмкіндігі және алынған нәтижелердің 100%-ын интерпретациялау мүмкіндігі көрсетілді. ХМТ жасушаларды өсірмей-ақ бүкіл феталдық геномды бір мезгілде бағалауға, сандық (6%) және құрылымдық (12%) хромосомалық өзгерістерді анықтауға мүмкіндік берді. Анықталған ең кіші өзгерістің мөлшері 0,26 Мб болды. Әдіс нәтижені жылдам алуды қамтамасыз ететін бірінші кезектегі зерттеу ретінде қарастырылуы мүмкін. Бұл иЖӘҮ кезінде феталдық материалды талдауда оның диагностикалық маңызын растайды.

3. Түсік материалының 100 үлгісінің 18%-ында хромосомалық аномалиялар анықталды. Анықталған патология құрылымында 10 жағдайда (55,5%) кездескен делециялар басым болды. Дупликациялар мен қосарланған қайта құрылымдар бір-бір жағдайда (5,6%) анықталды, ал сандық анеуплоидиялардың үлесі 33,3% құрады. Патогенді CNV анықталған 12 үлгінің 10-ында (83,3%) қайта құрылымдар эмбриогенез бен плацентогенезге қатысатын гендерді қамтыды.

Түсік материалында хромосомалық бұзылыстар анықталған әйелдерде анамнездегі дамымай қалған жүктіліктердің орташа саны аномалиялар анықталмаған топпен салыстырғанда статистикалық тұрғыдан мәнді жоғары болды (p=0,0065): тиісінше 0,56±0,51 және 0,28±0,61. Жүктілік үзілген кездегі орташа мерзім де статистикалық тұрғыдан мәнді қысқа болды (p=0,0042): тиісінше 6,61±1,29 және 8,17±1,92 апта. Әйелдердің жасы, жүктіліктердің жалпы саны және ерте мерзімде өздігінен болған түсіктер саны бойынша топтар арасында статистикалық мәнді айырмашылықтар анықталмады.

4. ЖӘҮ кезінде медициналық-генетикалық кеңес беруді, түсік материалының ХМТ-сын, анықталған нұсқаларды клиникалық интерпретациялауды, көрсетілімдер бойынша ата-аналарды тексеруді және прегравидарлық дайындықты қамтитын молекулалық-генетикалық тексеру алгоритмі әзірленді. ҚР Денсаулық сақтау министрлігінің «Жүктілікті көтере алмау: диагностикалау және емдеудің клиникалық хаттамасы» (2023, №185) құжатында көзделген ерлі-зайыптыларды кариотиптеуге қосымша, алгоритм анеуплоидиялар мен теңгерілмеген құрылымдық бұзылыстарды анықтау үшін феталдық материалды толық геномдық зерттеуді қарастырады. Бұл себебі белгісіз ЖӘҮ жағдайларының үлесін азайтуға мүмкіндік береді.

Жұмыстың апробациясы

Диссертациялық жұмыс «Астана медицина университеті» КеАҚ «Қоғамдық денсаулық және гигиена» кафедрасының кеңейтілген отырысында алдын ала қорғауда тыңдалды (2026 жылғы 10 сәуірдегі №8 хаттама). «ҚДСЖМ» Қазақстандық медицина университетінің Ғылыми кеңесінде оң баға берілді (2026 жылғы 17 қыркүйектегі №1 хаттама).

Зерттеу нәтижелері мынадай ғылыми іс-шараларда ұсынылды:

«Орфандық ауруларды диагностикалау мен емдеудің геномдық технологиялары» республикалық конференциясы, Алматы қаласы, 2023 жылғы 15-16 маусым.

Медициналық генетиктер қауымдастығының өңірлік мектебі, Түркістан қаласы, 2024 жыл.

«Клиникалық тәжірибедегі геномдық және генетикалық технологиялар» республикалық конференциясы, Алматы қаласы, 2026 жылғы 5-6 маусым.

Диссертация тақырыбы бойынша жарияланымдар

Зерттеудің негізгі нәтижелері The International Journal of Gynecology&Obstetrics халықаралық ғылыми басылымында «Molecular cytogenetic study of the fetal genome in idiopathic recurrent pregnancy loss» мақаласында жарияланды (https://doi.org/10.1002/ijgo.16163). Журналдың процентилі - 81.

«Study of abortion material in idiopathic habitual miscarriage of pregnancy: Literature review» тақырыбындағы әдебиетке шолу 60-процентильдегі Polski Mercuriusz Lekaski Polish Medical Journal журналында жарияланды (10.36740/Merkur202503117).

«Population characteristics of genes associated With idiopathic recurrent miscarriage In the kazakh population» мақаласы Science & Healthcare журналында жарияланды, 2023, 25-том, №3.

«Жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрінің генетикасы: қазақ популяциясындағы жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрінің генетикалық предикторлары» монографиясы жарық көрді (ISBN-13: 978-6207451531). Монографияда осы зерттеу нәтижелеріне негізделген тарау берілген.

Зерттеу нәтижелерін денсаулық сақтау тәжірибесіне енгізу

ҚР Әділет министрлігінің Ұлттық зияткерлік меншік институтында тіркелген авторлық куәлік алынды. Зерттеу нәтижелері мен иЖӘҮ бар пациенттерді диагностикалау алгоритмі «Молекулалық медицина орталығы» ЖШС дәрігер-генетиктерінің практикалық жұмысына енгізілді.

Автордың жеке үлесі

Автор жүктіліктің әдеттегі үзілуінің идиопатиялық түрі мәселесі бойынша шетелдік және отандық әдебиетке ақпараттық-талдамалық шолуды, сондай-ақ 197 әдебиет көзін іздеу мен талдауды өз бетінше орындады. Түсік материалының 100 үлгісіндегі хорион бүрлерінен ДНҚ бөліп алуды, оның концентрациясын өлшеуді және хромосомалық микроматрицалық талдаудың барлық кезеңдерін автор өзі жүргізді. Зерттеу нәтижелерін статистикалық өңдеу мен талдау, анықталған барлық CNV-ді жүйелеу және клиникалық маңызына қарай жіктеу дербес орындалды. CNV-ді биоинформатикалық интерпретациялау кезінде қайта құрылымның мөлшері, түрі (делеция/дупликация), орналасуы, оның шегіндегі гендердің орналасуы және белгілі синдромдарға тән геномдық аймақтармен қабаттасуы ескерілді. OMIM, ClinGen, DECIPHER және gnomAD Structural Variants дерекқорларын пайдалана отырып, гендердің аннотациясы дербес орындалды.

Жұмыстың көлемі мен құрылымы

Диссертациялық жұмыс 113 бетте баяндалған. Ол кіріспеден, мәселенің қазіргі жағдайына арналған әдебиетке шолудан, материалдар мен әдістерден, үш бөлімде берілген өзіндік зерттеу нәтижелерінен, тұжырымдар мен практикалық маңызы көрсетілген қорытындыдан және пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады. Әдебиеттер тізіміне 197 дереккөз енгізілген, оның ішінде 189-ы ағылшын тілінде және 8-і орыс тілінде. Диссертация мәтінінде 11 кесте мен 30 сурет берілген.

ABSTRACT
of the dissertation by Aigerim Tolegenovna Sadyrbekova
Molecular Genetic Study of the Fetal Genome in Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss
submitted for the degree of Doctor of Philosophy (PhD)
under the educational program 8D10102 – Medicine

Relevance of the study

Maternal and child health is a priority of the Concept for Healthcare Development in the Republic of Kazakhstan for 2022-2029 (Government of the Republic of Kazakhstan 2022). Recurrent pregnancy loss (RPL), which affects up to 3% of women of reproductive age, remains a major concern in reproductive medicine (Yang et al. 2024; Cao et al. 2022; Chester et al. 2022). Established causes of RPL include embryonic chromosomal abnormalities, parental carriage of balanced translocations, uterine anatomical abnormalities, immunological factors, thrombophilias, infections, and endocrine disorders (Turesheva et al. 2023; Vomstein et al. 2021; Regan et al. 2023). According to the American Society for Reproductive Medicine (ASRM), RPL is defined as the loss of two or more clinically confirmed pregnancies (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2013). Assessment of genetic, anatomical, endocrine, and other factors forms the basis of the investigation of recurrent losses (ESHRE Guideline Group on RPL 2023; Roberts et al. 2024).

Studies of RPL indicate that the cause remains unidentified in more than half of cases (ESHRE Guideline Group on RPL 2023; Svyatova et al. 2019). In clinical practice, these cases are classified as idiopathic. Investigation of the fetal genome aims to identify chromosomal abnormalities that may account for up to 65% of RPL cases (Liao et al. 2023; D'Ippolito et al. 2023). For this purpose, the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) recommends cytogenetic analysis of products of conception (POC) (Regan et al. 2023). The European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) recommends chromosomal microarray analysis (CMA) using array comparative genomic hybridization (aCGH) for genetic testing of POC (ESHRE Guideline Group on RPL 2023). Identifying chromosomal abnormalities in POC helps clarify the causes of RPL and determine the indications for further evaluation of the couple (Kutteh et al. 2024).

The detection of structural abnormalities in the fetal genome depends on the resolution of the diagnostic method. Conventional karyotyping identifies numerical chromosomal abnormalities and large structural rearrangements exceeding 5-10 Mb (Reddy et al. 2012). aCGH enables the detection of copy number variants (CNVs) without cell culture. In the meta-analysis by Dhillon et al., CMA provided an additional chromosomal abnormality detection rate of 13% (95% CI 8-21%) (Dhillon et al. 2014). Reddy et al. demonstrated the value of CMA by identifying pathogenic microdeletions and duplications in 9 cases (2.6%) with a normal karyotype (Reddy et al. 2012). Ozawa et al. reported that one advantage of the method is the ability to assess maternal cell contamination (Ozawa et al. 2016). However, CMA does not detect balanced translocations and has limitations in detecting low-level mosaicism (Regan et al. 2023; ESHRE Guideline Group on RPL 2023).

Despite extensive research into the genetic causes of RPL, the use of CMA in idiopathic RPL remains insufficiently studied. Fetal genomic analysis is complicated by difficulties in obtaining suitable specimens, tissue autolysis, and maternal cell contamination (Liao et al. 2023; Ozawa et al. 2016). The present study analyzed 100 POC specimens from women with idiopathic RPL (iRPL), constituting the largest sample in this patient group. Identifying chromosomal abnormalities in fetal material that explain recurrent losses allows their causes to be clarified and the diagnosis of iRPL to be reconsidered. The findings provide a basis for developing a clinical diagnostic algorithm, investigating affected couples, and determining subsequent management when planning pregnancy.

Study Aim

To improve the diagnosis of the causes of idiopathic recurrent pregnancy loss through chromosomal microarray analysis of fetal material.

Study Objectives

1. To determine the contribution of chromosomal aneuploidies to the etiology and pathogenesis of idiopathic recurrent pregnancy loss by analyzing POC using fluorescence in situ hybridization (FISH).

2. To assess the technical feasibility and diagnostic value of CMA of fetal material for detecting microdeletions and microduplications in iRPL.

3. To determine the frequency of aneuploidies and submicroscopic chromosomal abnormalities in POC in idiopathic pregnancy loss, and to compare women's clinical characteristics and medical histories according to the results of CMA of POC.

4. To develop and substantiate an algorithm for diagnosing numerical and submicroscopic chromosomal abnormalities in RPL using CMA.

Original Contributions

1. For the first time, the fetal genome was comprehensively investigated using CMA in patients with idiopathic RPL. This extended the understanding of the contribution of chromosomal abnormalities and CNVs to the etiology and pathogenesis of iRPL.

2. The frequency of lethal aneuploidies in POC was established in a group of patients with a clinical diagnosis of iRPL, allowing 6% of pregnancy losses to be reclassified as chromosomally determined.

3. For the first time, the spectrum of submicroscopic chromosomal abnormalities was characterized, and the genetic contribution of CNVs to the etiology and pathogenesis of iRPL was demonstrated through analysis of the candidate genes involved. These findings support the diagnostic value of CMA in fetal genomic investigation.

4. The findings support the inclusion of aCGH in the algorithm for molecular genetic investigation of POC in iRPL.

Practical Significance

The study supports the use of CMA of fetal material to clarify the chromosomal causes of RPL. Identifying a chromosomal cause of recurrent losses helps determine the indications for further investigation of the couple and supports recommendations for planning a subsequent pregnancy.

When a chromosomal abnormality is detected in fetal material, karyotyping of both partners is recommended. If a balanced rearrangement is confirmed, preimplantation genetic testing for structural rearrangements (PGT-SR) and prenatal diagnosis in a subsequent pregnancy are proposed. A clinical diagnostic algorithm for couples with RPL was developed on the basis of the study findings. The algorithm includes genetic counseling followed by CMA of POC. If no pathogenic CNVs or aneuploidies are detected, further investigation of the causes of RPL is recommended. The findings are used to develop an individualized program of preconception care and periconceptional preventive measures.

Study Material

The study included 100 POC specimens obtained from women with idiopathic RPL.

Inclusion Criteria

– Women aged 18-45 years;

– A history of two or more early spontaneous miscarriages, in accordance with ASRM recommendations;

– Pregnancy confirmed by ultrasonography and human chorionic gonadotropin (hCG) testing.

Exclusion Criteria

The following criteria were applied to minimize phenotypic heterogeneity and exclude known causes of RPL:

– Luteal phase dysfunction identified by endometrial biopsy;

– Uterine anatomical abnormalities diagnosed by hysterosalpingography, hysteroscopy, or sonohysteroscopy;

– Balanced chromosomal abnormalities identified by karyotyping both partners;

– Antiphospholipid syndrome confirmed by testing for anti-beta2-glycoprotein I antibodies (IgG/IgM), anticardiolipin antibodies (IgG/IgM), and lupus anticoagulant;

– Multiple pregnancy confirmed by ultrasonography;

– Sexually transmitted infections, including bacterial infections (syphilis, gonorrhea, and others), viral infections (hepatitis B and C, herpes simplex virus, and others), and parasitic or other infections, confirmed by two tests on different biological specimens (IgG/IgM; polymerase chain reaction (PCR), smear examination; real-time PCR);

– Thyroid dysfunction identified by thyroid-stimulating hormone (TSH) and thyroid antibody testing.

The dissertation was conducted as part of the project component "Molecular Genetic Predictors and Medical and Social Determinants of Early Reproductive Losses in the Kazakh Population" within the targeted research program "Molecular Genetic Approaches to Presymptomatic Diagnosis and Treatment Methods for Selected Major Diseases," 49019/ПЦФ-М3СР-ОТ-18. The study was conducted prospectively. Patients were recruited at the outpatient department of the Scientific Centre of Obstetrics, Gynecology and Perinatology. POC specimens from women with iRPL were collected at healthcare institutions across the Republic of Kazakhstan. Genome-wide aCGH analysis was performed in the laboratory of the Molecular Medicine Centre.

Focus of the Study

The molecular genetic characteristics of the genome in fetal material obtained from women with idiopathic RPL.

Main Propositions for the Dissertation Defense

1. FISH provides limited information when POC specimens show extensive tissue fragmentation and autolysis. This supports the need for more sensitive methods to diagnose chromosomal abnormalities in POC.

2. The technical feasibility of CMA supports its use as a first-line test for POC from women with iRPL. CMA demonstrates 100% sensitivity for abnormalities measuring at least 0.26 Mb. Its advantages include the absence of a requirement for cell culture and the detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. The diagnostic yield was 18%.

3. The first aCGH analysis of fetal material from patients with iRPL detected aneuploidies in 6% of specimens and an additional 12% with CNVs, allowing the diagnosis of unexplained RPL to be ruled out in these cases. Deletions predominated among the submicroscopic chromosomal abnormalities associated with iRPL and accounted for 55.5% of the abnormalities detected. Duplications (5.6%) and combined rearrangements (5.6%) were less frequent. The pathogenic CNVs also encompassed genes implicated in impaired implantation, placental formation, and embryonic development.

4. The molecular genetic investigation algorithm developed for iRPL comprises sequential stages of pretest counseling, aCGH analysis of POC, interpretation of results, and parental investigation. The algorithm improves the accuracy of etiological diagnosis and supports individualized recommendations followed by preconception care and periconceptional folate supplementation.

Conclusions

1. Extensive autolysis of POC limits the use of FISH for aneuploidy diagnosis. The copy number of the chromosomes under investigation could not be assessed in any of the 40 specimens (100%). The panel of probes for chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, used in accordance with the Medical Services Tariff Schedule of the Ministry of Healthcare of the Republic of Kazakhstan, restricted the spectrum of detectable abnormalities compared with aCGH.

2. CMA of POC from women with iRPL was technically feasible and yielded interpretable results in 100% of specimens. CMA enabled simultaneous assessment of the entire fetal genome and identified numerical (6%) and structural (12%) chromosomal abnormalities without cell culture. The smallest detected abnormality measured 0.26 Mb. The method may be considered a first-line test that provides rapid results, supporting its diagnostic value in the analysis of fetal material in iRPL.

3. Chromosomal abnormalities were detected in 18% of the 100 POC specimens. Deletions were the predominant abnormality, occurring in 10 cases (55.5%). Duplications and combined rearrangements were each identified in one case (5.6%), while aneuploidies accounted for 33.3% of the abnormalities. In 10 (83.3%) of the 12 specimens with pathogenic CNVs, the rearrangements affected genes involved in embryogenesis and placentogenesis.

Women whose POC showed chromosomal abnormalities had a significantly higher mean number of previous missed miscarriages than those without detected abnormalities: 0.56±0.51 versus 0.28±0.61 (p=0.0065). The mean gestational age at pregnancy loss was also significantly lower: 6.61±1.29 versus 8.17±1.92 weeks, respectively (p=0.0042). There were no statistically significant differences between the groups in maternal age, total number of pregnancies, or number of early spontaneous miscarriages.

4. An algorithm for molecular genetic investigation of RPL was developed, incorporating genetic counseling, CMA of POC, clinical interpretation of detected variants, parental investigation when indicated, and preconception care. In addition to parental karyotyping, as stipulated in the clinical protocol of the Ministry of Healthcare of the Republic of Kazakhstan, "Pregnancy Loss: Clinical Protocol for Diagnosis and Treatment" (2023, No. 185), the algorithm includes genome-wide analysis of fetal material to identify aneuploidies and unbalanced structural abnormalities. This approach is expected to reduce the proportion of RPL cases of unknown etiology.

Academic Review and Presentation of the Research

The dissertation was presented at a preliminary defense during an extended meeting of the Department of Public Health and Hygiene at Astana Medical University, a non-profit joint-stock company (Minutes No. 8, April 10, 2026). It received a favorable assessment from the Scientific Council of Kazakhstan's Medical University "KSPH" (Minutes No. 1, September 17, 2026).

The research findings were presented at the following events:

1. The national conference "Genomic Technologies for the Diagnosis and Treatment of Orphan Diseases," Almaty, June 15-16, 2023.
2. The Regional School of the Association of Medical Geneticists, Turkestan, 2024.
3. The national conference "Genomic and Genetic Technologies in Clinical Practice," Almaty, June 5-6, 2026.

Publications Arising from the Dissertation

1. The principal findings were published in the International Journal of Gynecology & Obstetrics in the article "Molecular cytogenetic study of the fetal genome in idiopathic recurrent pregnancy loss" (https://doi.org/10.1002/ijgo.16163). The journal is ranked at the 81st percentile.
2. The review "Study of abortion material in idiopathic habitual miscarriage of pregnancy: Literature review" was published in Polski Merkuriusz Lekarski (Polish Medical Journal), ranked at the 60th percentile (10.36740/Merkur202503117).
3. The article "Population characteristics of genes associated with idiopathic recurrent miscarriage in the Kazakh population" was published in Science & Healthcare, 2023, Vol. 25, No. 3.
4. The monograph "Genetics of Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss: Genetic Predictors of Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss in the Kazakh Population" was published (ISBN-13: 978-6207451531). It includes a chapter based on the findings of this study.

Implementation in Clinical Practice

A copyright certificate was obtained and registered with the National Institute of Intellectual Property of the Ministry of Justice of the Republic of Kazakhstan. The study findings and the diagnostic algorithm for patients with iRPL have been implemented in the clinical practice of medical geneticists at the Molecular Medicine Centre LLP.

Author's Contribution

The author independently reviewed and analyzed the international and domestic literature on idiopathic RPL, including the retrieval and analysis of 197 references. The author personally extracted DNA from chorionic villi in 100 POC specimens, measured DNA concentrations, and performed all stages of CMA. Statistical processing and analysis of the results, as well as systematic

organization and classification of all detected CNVs according to clinical significance, were performed independently. Bioinformatic interpretation of CNVs considered the size, type (deletion or duplication), and location of each rearrangement, the genes within the affected region, and overlap with regions associated with known syndromes. Gene annotation was independently performed using OMIM, ClinGen, DECIPHER, and gnomAD Structural Variants.

Dissertation Structure and Length

The dissertation comprises 113 pages and consists of an introduction, a review of the current literature, materials and methods, three sections presenting the original research findings, a concluding section addressing the main findings and their practical significance, and a reference list. The bibliography contains 197 references, including 189 in English and 8 in Russian. The dissertation includes 11 tables and 30 figures.