

На правах рукописи

Ахмед Абдулбари Амин Махюп

**ГЕННЫЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ПРИВЫЧНЫМ
НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ У РУССКИХ ЖЕНЩИН**

03.02.07 – генетика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2020

Работа выполнена на кафедре биологии и общей генетики медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» (РУДН)

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор **Азова Мадина Мухамедовна**

Официальные оппоненты:

Тугуз Аминат Рамазановна – доктор биологических наук, профессор, заведующая иммуногенетической лабораторией научно-исследовательского института комплексных проблем ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет» Министерства науки и высшего образования РФ

Оразмурад Агамурад Акмамедович - доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования РФ

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Министерства науки и высшего образования РФ

Защита диссертации состоится «23» декабря 2020 г. в 15.00 на заседании диссертационного совета ПДС 0300.005 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) по адресу: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.8.

С диссертацией можно ознакомиться в УНИБЦ (Научной библиотеке) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.6 и на сайте <http://dissovet.rudn.ru>.

Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайтах <http://vak2.ed.gov.ru> и <http://dissovet.rudn.ru>

Автореферат разослан «_____» _____ 2020 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета ПДС 0300.005

кандидат биологических наук, доцент

Гигани Ольга Олеговна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Потеря беременности является распространенной медико-социальной проблемой, от которой по разным причинам страдает множество пар. Установлено, что до 31% беременностей могут заканчиваться выкидышем [Simpson, *et. al.*, 2013]. При учете потерь, происходящих в первые четыре недели беременности и остающихся недиагностированными, данный показатель может возрасти до 50-75% [Ramanathanpullai, *et. al.*, 2017]. Приблизительно 80% выкидышей происходят до 12 недель гестации [ACOG Practice Bulletin, 2018; Адамян Л.В. и соавт., 2016; Радзинский В.Е. и соавт., 2019]. Частота репродуктивных потерь на ранних сроках увеличивается с возрастом женщины [ACOG Practice Bulletin, 2018]. Ранние репродуктивные потери (РРБ) представляют собой потерю клинически диагностированной беременности в течение первых трех месяцев гестации [ACOG Practice Bulletin, 2018]. Наиболее часто встречается однократное прерывание беременности, или спорадический выкидыш (СПБ). В случае спонтанного прерывания двух или более беременностей используется термин «привычное невынашивание» (повторная потеря беременности, ППБ). Оно наблюдается у 2-5% супружеских пар [Scott, *et. al.*, 2003; Chaithra, *et. al.*, 2011; Ford and Schust, 2009, Bashiri and Borick, 2016]. Привычное невынашивание может быть первичным, если женщина не имела ранее успешных беременностей, или вторичным в случае наличия хотя бы одной успешной беременности [ESHRE Early Pregnancy Guideline Development Group, 2017].

Несмотря на то, что известен ряд факторов, приводящих к ранним репродуктивным потерям, в половине случаев причины остаются неизвестными [Rai and Regan, 2006]. Выявлено, что генетические факторы являются причиной привычного невынашивания в 3-5% случаев, хромосомные аномалии – 7%, гормональные нарушения – 15%, анатомические дефекты – 10-15% [Chaithra, *et. al.*, 2011]. Цитогенетические нарушения наблюдаются в 50-70% случаев спорадического выкидыша, из которых 60% представлены трисомиями по ауто索мам, 20% - моносомией X, 20% - полиплоидией [Hyde and Schust, 2015; Адамян Л.В. и соавт., 2016]. Привычное невынашивание вызывается разнообразными факторами, к важнейшим из которых относится генетический материал родителей. Вместе с тем следует отметить, что не существует некоего единого генетического предиктора

репродуктивных потерь, хотя материнские факторы риска более информативны вследствие прямого влияния на развитие плода. Установлено, что дифференциальная экспрессия генов важна для активации многих биологических процессов, необходимых для успешного вынашивания плода, и более 30 генов обеспечивают различные уровни экспрессии генов у здоровых женщин и женщин с репродуктивными потерями [Ваек, 2004] и, возможно, они вовлечены в повторные потери беременности. В ряде исследований показано, что изменения в структуре материнских генов, ответственных за регуляцию некоторых биологических процессов, вовлеченных в репродукцию, могут привести к нарушениям метилирования ДНК плода, аномалиям хромосом, тромбофилии, нарушению васкуляризации ворсинок хориона, что, в свою очередь, приводит к нарушению роста и развития эмбриона, и в результате беременность прерывается [Li, *et. al.*, 2014; Sazegari, *et. al.*, 2014; Rodger, *et. al.*, 2008; Sun, *et. al.*, 2017].

Метилирование ДНК представляет собой эпигенетический процесс, катализируемый семейством ДНК-метилтрансфераз (DNMT), которые присоединяют метильную группу к цитозинам, расположенным в так называемых CpG-островках промоторных областей генов, влияя таким образом на их экспрессию [Li and Zhang, 2014]. На ранних сроках беременности, вскоре после формирования зиготы перед имплантацией, ДНК эмбриона подвергается глобальному деметилированию, после чего ДНК в клетках реметилируется. Установленные паттерны метилирования ДНК в дальнейшем поддерживаются для нормального развития эмбриона и плаценты. Соответственно, изменения в генах ДНК-метилтрансфераз могут приводить к аномальному метилированию ДНК в генах, регулирующих рост и развитие, нарушая их функции и, в конечном итоге, приводя к ранней гибели плода и потере беременности [Li and Zhang, 2014]. Согласно имеющимся сведениям, большинство генных полиморфизмов ДНК-метилтрансфераз были детально изучены при различных онкологических заболеваниях, но лишь некоторые из них исследовались в связи с ранними репродуктивными потерями, что недостаточно для подтверждения связи вызванного ими aberrантного глобального метилирования ДНК с привычным невынашиванием. Анализ литературных данных также показал, что большинство полиморфизмов генов DNMT не исследовались в России в целом, и, в частности, у женщин с потерей

беременности на ранних сроках. В соответствии с Концепцией демографической политики Российской Федерации на период до 2025 года, утвержденной в 2007 году и направленной на снижение материнской и младенческой смертности не менее чем на 50% и укрепление репродуктивного здоровья населения [Reproductive Health Survey Russia, 2011], и с целью внесения вклада в реализацию данной стратегии, настоящее исследование было направлено на выявление среди малоизученных кандидатных генов новых генетических факторов риска, которые могут способствовать прогнозированию повторной потери беременности на ранних сроках.

Цель исследования. Выявить генные полиморфизмы, ассоциированные со спорадической и повторной потерей беременности на ранних сроках у женщин русской национальности, проживающих в Центральной России.

Задачи исследования

1. Исследовать ассоциацию ряда полиморфизмов, вовлеченных в метилирование ДНК (*DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626*, *DNMT3A rs7590760*, *DNMT3B rs2424913*, *DNMT3B rs1569686*, *DNMT3L rs2276248*, *DNMT3L rs2070565*), с привычным невынашиванием беременности на ранних сроках.
2. Изучить возможность ассоциации полиморфизма *rs769825641* в гене белка синаптонемного комплекса SYCP3, участвующего в мейотическом делении, с повышенным риском ранних репродуктивных потерь.
3. Исследовать полиморфизмы в генах протромбина (*FII rs1799963*), фактора V (*FVL rs6025, Leiden*), *VEGFA (rs3025039, rs699947)*, *MTHFR (rs1801133, rs1801131)*, *MTR (rs1805087)* и *MTRR (rs1805087)*, которые, как ранее установлено, вовлечены в потери беременности, для оценки их значимости в исследуемых нами группах.
4. Определить встречаемость среди женщин русской национальности всех исследованных в данной работе полиморфных вариантов и провести сравнительный анализ полиморфизмов в генах *DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*, *DNMT3L* и *SYCP3* с генными полиморфизмами, рекомендованными в качестве генетических предикторов привычного невынашивания беременности.

Научная новизна работы. Впервые в России исследована частота аллелей и генотипов по 8 однонуклеотидным полиморфизмам генов ДНК-метилтрансфераз (*DNMT3B rs2424913*, *DNMT3B rs1569686*, *DNMT3A rs7590760*, *DNMT1 rs2228611*,

DNMT1 rs8101626, *DNMT3L rs2276248* и *DNMT3L rs2070565*) и белка *SYCP3 (rs769825641)* среди женщин с потерей беременности на раннем сроке. Более того, большинство из указанных полиморфных локусов ранее в нашей стране не изучались, и полностью отсутствуют популяционные данные о частотах аллелей и генотипов. В рамках представленной работы впервые проведена оценка встречаемости среди женщин русской национальности аллелей и генотипов по генным полиморфизмам *DNMT3B rs2424913*, *DNMT3B rs1569686*, *DNMT3A rs7590760*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626*, *DNMT3L rs2276248*, *DNMT3L rs2070565*, *SYCP3 rs769825641*, и выполнено сравнение частоты минорных генотипов и аллелей с таковой по генным полиморфизмам, рекомендуемым в качестве генетических предикторов привычного невынашивания беременности.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные в рамках настоящей работы данные показывают, что потеря беременности на ранних сроках у женщин русской национальности может являться следствием абберрантного метилирования ДНК плода, возникающего из-за изменения нуклеотидной последовательности в генах *DNMT1* и *DNMT3B*, или хромосомных аномалий, вызванных вариациями структуры гена *SYCP3*. Ожидается, что новые генетические предикторы будут способствовать стратификации пациентов с РПБ и, в частности, привычным невынашиванием, а также созданию новых подходов к диагностике и профилактике репродуктивных потерь, базирующихся на результатах генетических исследований.

Методология и методы диссертационного исследования. Для определения встречаемости полиморфных вариантов генов, изученных в рамках представленного исследования, выполнялось генотипирование образцов ДНК, выделенных из периферической крови участников исследования, с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени, ПЦР с последующей рестрикцией ДНК и аллель-специфичной ПЦР. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения SPSS Statistics, версия 22.

Положения, выносимые на защиту

1. Генотипы и аллели по полиморфизмам *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626* генов, участвующих в глобальном метилировании ДНК,

ассоциированы у женщин русской национальности с повышенным риском спорадических и повторных потерь беременности на ранних сроках.

2. Гетерозиготный генотип и аллель *C* по полиморфному локусу *SYCP3 rs769825641 (T657C)* ассоциированы со спорадической потерей беременности у женщин русской национальности.

3. Встречаемость минорных аллелей по генным полиморфизмам *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626*, и *SYCP3 rs769825641* у русских женщин сопоставима с частотой общеизвестных полиморфных вариантов, ассоциированных с повышенным риском потери беременности.

Степень достоверности. Достоверность результатов работы подтверждается достаточным числом исследованных образцов (237), применением современных технологий генотипирования и реагентов надлежащего качества, а также использованием методов статистической обработки данных, полностью соответствующих поставленным задачам.

Апробация результатов диссертации. Материалы диссертации доложены на научных конференциях «Агаджаньяновские чтения» (Москва, 2018 г.), 43-й Международный конгресс FEBS (Прага, 2018 г.), 44-й Международный конгресс FEBS (Краков, 2019 г.) и заседании кафедры биологии и общей генетики медицинского института РУДН (2020 г.).

Внедрение результатов в практику. Результаты представленной работы внедрены в учебный процесс при изучении дисциплин «Биология», «Биология с основами медицинской генетики» и «Молекулярная генетика в практической биологии и медицине» на кафедре биологии и общей генетики медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Публикация результатов исследования. По материалам исследования опубликовано 7 научных работ, в числе которых 4 статьи, из них 2 – в журналах, индексируемых в базах WoS / Scopus, и 2 – в изданиях, включенных в перечень РУДН.

Личный вклад автора. Автором проведен анализ литературных данных по теме исследования, адаптированы методики определения ряда полиморфизмов, самостоятельно выполнены все необходимые молекулярно-генетические исследования и описаны полученные результаты. Диссертанту принадлежит

ведущая роль в анализе полученных данных и написании научных работ. Диссертационная работа написана лично автором.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения и списка литературы. Работа изложена на 138 страницах машинописного текста, содержит 13 рисунков и 15 таблиц. Библиография включает 224 источников российской и зарубежной литературы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика исследуемых групп. В рамках настоящей диссертационной работы были выполнены два вида исследований. Первое исследование – типа «случай-контроль», в котором проводилось сравнение женщин с потерей беременности на сроке гестации до 12 недель с женщинами, имевшими нормально протекавшие беременности, и неотягощенным акушерским и гинекологическим анамнезом. Второе исследование – популяционное – выполнялось в случайной выборке женщин без беременности в анамнезе.

В исследовании принимали участие 237 женщин русской национальности, проживающих в Центральной России. Общая группа пациентов включала 100 женщин в возрасте $31,5 \pm 4,9$ лет, контрольная группа состояла из 56 женщин в возрасте $29,2 \pm 3,5$ лет, популяционная выборка включала 81 женщину ($22,3 \pm 2,6$ лет). Пациентки были разделены на 2 группы: 50 женщин со спорадическим выкидышем (СПБ), за которым следовали одна или более нормально протекавших беременностей ($30,81 \pm 5,9$ лет), и 50 женщин ($31,1 \pm 5,5$ лет) с двумя или более потерями беременности (привычное невынашивание, ППБ). Средний возраст пациенток достоверно не отличался от возраста женщин контрольной группы. Женщины с повторными потерями беременности в свою очередь были разделены на 2 подгруппы: 21 пациентка с первичным привычным невынашиванием (первичная ППБ) и 29 пациенток со вторичным привычным невынашиванием (вторичная ППБ). Критерием исключения было наличие анатомических аномалий или заболеваний, способных индуцировать РПБ. Информированное согласие было получено от всех участников исследования.

Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществлялось с использованием реагентов компании «Синтол» (Россия).

Генотипирование. Исследование генных полиморфизмов *DNMT3B rs1569686*, *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626*, *DNMT3A rs7590760*, *DNMT3L rs2070565*, *DNMT3L rs2276248* выполнялось методом полимеразной цепной реакции в последующей рестрикцией ДНК с использованием рестриктаз компании Сибэнзим (Россия). Генотипирование по полиморфизму *SYCP3 rs769825641* осуществлялось методом аллель-специфичной ПЦР. Детекцию продуктов рестрикции и амплификации выполняли методом горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле (табл.1).

Таблица 1. Условия генотипирования

Генные полиморфизмы	Праймеры	Температура отжига	Рестрик таза	Длина фрагментов ДНК, пн
DNMT3B rs2424913	F: 5'TGCTGTGACAGGCAGAGCAG3' R: 5'GGTAGCCGGGAАСТССАСGG3'	65 °С	ASPA2I	СС: 380 СТ:380, 207, 173 ТТ: 207, 173
DNMT3B rs1569686	F: 5GAGGTCTCATTATGCCTAGG3' R: 5GGGAGCTCACSTTCTAGAAA3'	49 °С	PVuII	ТТ: 132, 93 ТG: 225, 132, 93 GG: 225
DNMT3L rs2276248	F: 5'TATGTTGTCCAGGCTCGTCTC3' R: 5'ATCACAATCGCCAACCGTAG3'	56 °С	PVuII	ТТ: 357 ТC: 357, 218, 139 СC: 218, 139
DNMT3L rs2070565	F: 5'GGGGTGCATCAGGGATCTGA3' R: 5'СТАAGTGACTGGTCCAATAAGC3'	53°С	ApeKI	AA: 218 AG: 218, 151, 67 GG: 151, 67
DNMT3A rs7590760	F: 5'TGCTGTGCCTACTCCAAACA3' R: 5'GCCATGAATGTCCAGAAGGT3'	62.6 °С	RsaI	СС: 267, 76 CG: 267, 76, 343 GG: 343
DNMT1 rs2228611	F:5'TATGTTGTCCAGGCTCGTCTC3' R:5'GТАCTGТАAGCАCGGTCАCCTG3'	55 °С	BStMAI	AA: 232, 28 AG: 232, 108, 124 , 28 GG: 108, 124, 28
DNMT1 rs8101626	F:5'CAAATGGGCCACCTAGACAC3' R:5'GGCAGAGATTGAGCCAGAAG3'	67 °С	BStMAI	AA: 640 AG:640, 474, 166 GG: 474, 166
SYCP3 rs769825641	F1: 5'ATGTTGCAAAAAAAAAATTATGATGG AAGCT3', F2: 5'ATGTTGCAAAAAAAAAATTATGATGG AAGCC3', R1,2: 5'TTGCTGCTGCTGTTTCATG3'	60 °С	-	286

Для генотипирования по полиморфным локусам *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTRR rs1801394*, *MTR rs1805087*, *VEGFA rs699947*, *VEGFA rs3025039*, *FVL rs6025*, *FII rs1799963* был применен метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, выполнявшийся с использованием наборов реагентов компании «Синтол» (Россия).

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя программное обеспечение SPSS, версия 22. Т-критерий Стьюдента для независимых выборок был применен для сравнения возраста в исследованных группах. Для сравнения частот генов и генотипов в изучаемых группах использовали критерий Хи-квадрат (χ^2), также были рассчитаны отношение шансов (OR), 95% доверительный интервал (CI) и величина относительного риска (RR). При частоте менее 5% был использован двусторонний точный тест Фишера. Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга в популяционной выборке также применяли критерий χ^2 .

Статистически значимыми считались различия при уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. ДНК-метилтрансферазы. В рамках настоящего исследования установлено, что распределение генотипов и частоты аллелей по полиморфизму *DNMT3B -149C>T (rs2424913)* как в общей группе пациенток с ранними репродуктивными потерями, так и в обеих подгруппах достоверно отличаются от таковых в группе здоровых женщин (табл. 2). Более того, обнаружено, что риск, СПБ, ППБ и РПБ значимо увеличивается при наличии гомозиготного генотипа *TT* (RR = 2,0; 1,98; 2,0, соответственно) и минорного аллеля *T* (RR = 1,5; 1,4; 1,5, соответственно).

Результаты, представленные в таблице 3, показывают, что частоты аллелей и генотипов по полиморфизму *DNMT3B rs2424913* достоверно отличаются от соответствующих показателей контрольной группы у женщин, страдающих вторичным привычным невынашиванием. У женщин с первичной ППБ значимо отличаются от контроля только частоты аллелей. Вместе с тем установлено, что наличие гомозиготного генотипа *TT* увеличивает риск первичной и вторичной ППБ в 1,9 и 2,0 раза, соответственно, а рецессивного аллеля *T* – в 1,4 раза.

Таблица 2. Частоты генотипов и аллелей (%) по генным полиморфизмам *DNMT3B* *rs2424913* и *DNMT3B* *rs1569686* в изучаемых группах

Генотипы и аллели	Контроль (n=56)	ППБ (n=100)	OR (95%CI), RR	СПБ (n=50)	OR (95%CI), RR	ППБ (n=50)	OR (95%CI), RR
<i>DNMT3B</i> <i>rs2424913</i>							
<i>CC</i>	55.4	30.0**	OR:4.44 (1.48-13.32) RR:2.0	30.0*	OR:4.78 (1.61-14.21) RR:2.0	30.0*	OR:4.1 (1.35-12.43) RR:1.98
<i>CT</i>	39.2	57.0**		56.0*		58.0*	
<i>TT</i>	5.4	13.0**		14.0*		12.0*	
<i>C</i>	75.0	58.5*	OR:2.09 (1.16-3.89) RR:1.5	58.0*	OR:2.26 (1.19-3.97) RR:1.5	59.0*	OR:2.08 (1.14-3.81) RR:1.4
<i>T</i>	25.0	41.5*		42.0*		41.0*	
<i>DNMT3B</i> <i>rs1569686</i>							
<i>GG</i>	39.2	35.0	OR:1.0 (0.44-2.26) RR:1.0	30.0	OR:1.0 (0.44-2.39) RR:0.9	40.0	OR:0.99 (0.45-2.17) RR:0.99
<i>GT</i>	42.9	49.0		56.0		42.0	
<i>TT</i>	17.9	16.0		14.0		18.0	
<i>G</i>	60.75	59.5		58.0		61.0	
<i>T</i>	39.25	40.5		42.0		39.0	

* - показатель достоверно отличается от контроля при $p \leq 0,05$

** - показатель достоверно отличается от контроля при ≤ 0.01

Таблица 3. Частоты генотипов и аллелей (%) по генному полиморфизму *DNMT3B* *rs2424913* в подгруппах с первичной и вторичной ППБ и контрольной группе

Генотипы и аллели	Контроль (n=56)	Первичная ППБ (n=21)	OR (95% CI), RR	Вторичная ППБ (n=29)	OR (95% CI), RR
<i>DNMT3B</i> <i>rs2424913</i>					
<i>CC</i>	55.4	33.3	OR:4.41 (1.5- 12.96) RR:1.9	27.6*	OR:3.83 (1.23-11.94) RR:2.0
<i>CT</i>	39.2	52.4		62.1*	
<i>TT</i>	5.4	14.3		10.3*	
<i>C</i>	75.0	59.5*	OR:2.04 (1.12 -3.73) RR:1.4	58.65*	OR:2.12 (1.16 -3.86) RR:1.4
<i>T</i>	25.0	40.5*		41.35*	

* - показатель достоверно отличается от контроля при $p \leq 0,05$

Ген *DNMT3B* кодирует ДНК-метилтрансферазу 3В, осуществляющую глобальное *de novo* метилирование ДНК в раннем эмбриогенезе. Исследуемый полиморфный локус *DNMT3B* *rs2424913* локализован в точке -149 промоторной области гена. Установлено, что однонуклеотидная замена цитозина на тимин в

данном сайте повышает активность промотора на 30%, в результате чего возрастает уровень экспрессии гена, что, в свою очередь, влияет на уровень метилирования ДНК на ранних стадиях эмбрионального развития [Bao, *et. al.*, 2001, Wang, *et. al.*, 2005]. Как следует из литературных данных, гипометилирование ряда генов играет важную роль в регуляции дифференцировки моноцитов и макрофагов в фетоматеринском пространстве, обеспечивая толерантность иммунной системы матери к антигенам плода [Kim, *et. al.*, 2012]. Следовательно, можно полагать, что повышение экспрессии гена *DNMT3B* может привести к гиперметилированию промоторов и подавлению активности ключевых генов, необходимых для регуляции иммунной толерантности и сохранения беременности. Полученные нами данные также согласуются с результатами исследований, продемонстрировавших необходимость *DNMT3B* для глобального реметилирования ДНК в бластоцисте и тот факт, что изменения в его экспрессии коррелированы с ухудшением состояния эмбрионов [Petruzza, *et. al.*, 2014]. Таким образом, можно заключить, что минорный генотип и аллель по данному полиморфизму значимо ассоциированы с СПБ и ППБ.

Полиморфизм *DNMT3B rs1569686* также локализован в промоторной области в сайте -579, однако его функциональная роль недостаточно изучена. Вместе с тем, есть предположения о его негативном влиянии на активность гена [Corpedè, *et. al.*, 2013]. Единственное исследование, проведенное в Словении, показало, что частоты генотипа *GG* и аллеля *G* значимо выше у женщин с привычным невынашиванием беременности по сравнению со здоровыми женщинами [Barišić, *et. al.*, 2017]. Однако в рамках нашей работы не было выявлено ассоциации данного полиморфизма с ранними репродуктивными потерями у русских женщин.

Как видно из результатов, представленных в таблице 4, частоты генов и генотипов по полиморфному локусу *DNMT3A rs7590760* в исследованных группах пациентов не отличаются от соответствующих показателей в контрольной группе. ДНК-метилтрансфераза 3А, кодируемая геном *DNMT3A*, также необходима для метилирования ДНК *de novo* в раннем эмбриогенезе. *DNMT3A rs7590760* представляет собой генный полиморфизм, локализованный в интронной области и, как установлено, находящийся в неравновесном сцеплении с несколькими полиморфизмами [Mostowska, *et. al.*, 2013, Piotrowski, *et. al.*, 2015].

Таблица 4. Частоты генотипов и аллелей (%) по генным полиморфизмам *DNMT3A* *rs7590760*, *DNMT3L rs2276248* и *DNMT3L rs2070565* в изучаемых группах

Генотипы и аллели	Контроль (n=56)	РПБ (n=100)	OR (95%CI), RR	СПБ (n=50)	OR (95%CI), RR	ППБ (n=50)	OR (95%CI), RR
<i>DNMT3A rs7590760</i>							
<i>CC</i>	32.1	26.0	OR:1.3 (0.58-2.79) RR:1.1	32.0	OR:0.9 (0.43-2.05) RR:0.9	20.0	OR:1.2 (0.56-2.8) RR:1.4
<i>CG</i>	46.4	52.0		48.0		56.0	
<i>GG</i>	21.4	22.0		20.0		24.0	
<i>C</i>	55.3	52.0		56.0		48.0	
<i>G</i>	44.6	48.0		44.0		52.0	
<i>DNMT3L rs2276248</i>							
<i>TT</i>	94.6	91.0	OR:1.7 (0.57-5.23) RR:1.3	90.0	OR:1.9 (0.66-5.76) RR:1.3	91.7	OR:1.59 (0.52-4.86) RR:1.23
<i>CT</i>	5.4	9.0		10.0		8.3	
<i>CC</i>	0	0		0		0	
<i>T</i>	97.3	95.5		95.0		95.85	
<i>C</i>	2.7	4.5		5.0		4.15	
<i>DNMT3L rs2070565</i>							
<i>GG</i>	12.5	6.0	OR:1.6 (0.5-5.68) RR:1.4	10.0	OR:1.1 (0.36-3.26) RR:1.0	2.0	OR:4.66 (0.88-24.73) RR:3.09
<i>GA</i>	71.4	81.0		76.0		86.0	
<i>AA</i>	16.1	13.0		14.0		12.0	
<i>G</i>	48.2	46.5		48.0		45.0	
<i>A</i>	51.8	53.5		52.0		55.0	
<i>GA+AA</i>	87.5	94.0		90.0		98.0*	OR:7.0 (1.53-32.0)
<i>GG</i>	12.5	6.0		10		2.0*	RR:3.8

* - показатель достоверно отличается от контроля при $p \leq 0,05$

В ряде исследований было показано, что нормальная экспрессия *DNMT3A* не препятствует ранним репродуктивным потерям [Okano, *et. al.*, 1999, Yin, *et. al.*, 2012]. Их результаты согласуются с нашими данными, продемонстрировавшими отсутствие ассоциации между *DNMT3A rs7590760* и РПБ. В двух работах, посвященных анализу данного полиморфизма у женщин с раком яичников и системной красной волчанкой, также не было найдено достоверной ассоциации с заболеванием [Mostowska, *et. al.*, 2013, Piotrowski, *et. al.*, 2015]. Таким образом,

можно полагать, что данный полиморфизм не оказывает значительного влияния на активность фермента.

В рамках представленного исследования также не было обнаружено ассоциации между генным полиморфизмом *DNMT3L* *rs2276248* и потерей беременности на ранних сроках. Сходные результаты были получены и при оценке распределения генотипов и аллелей по полиморфизму *DNMT3L* *rs2070565* среди женщин с СПБ, ППБ и общей группе пациенток в сравнении с данными контрольной группы. Однако суммарная частота минорных гомозигот и гетерозигот в группе женщин с привычным невынашиванием (*GA+AA* 98.0%, *GG* 2.0%) была достоверно выше, чем в контроле (*GA+AA* 87.5%, *GG* 12.5%, $P= 0.041$). Таким образом, наличие в генотипе аллеля *A* может увеличивать риск развития привычного невынашивания.

ДНК-метилтрансфераза 3-подобный фермент, кодируемый геном *DNMT3L*, является фактором, необходимым для метилирования ДНК, т.к. стимулирует активность ДНК-метилтрансфераз 3А и 3В [Suetake, *et. al.*, 2004, Jurkowska and Jeltsch, 2016]. Оба исследованных полиморфизма гена *DNMT3L* (*rs2070565*, *rs2276248*) локализованы в интронной области. Анализ, проведенный с использованием ресурса ESEfinder, показал, что аллель *A* по полиморфизму *rs2070565*, находясь в сайте сплайсинга, может уменьшать активность сплайсинга мРНК, таким образом, возможно, снижая экспрессию гена *DNMT3L* [Huang, *et. al.*, 2012] и, как следствие, активность DNMT3В и DNMT3А. Наше предположение о возможной ассоциации аллеля *A* с нарушениями в эмбриогенезе подтверждается данными о его взаимосвязи с нарушениями в сперматогенезе у бесплодных мужчин [Huang, *et. al.*, 2012].

Как видно из данных, представленных в таблице 5, распределения генотипов и аллелей по полиморфизму *DNMT1* *rs2228611* в группе с ППБ и, как следствие, с РПБ, статистически значимо отличаются от таковых в группе сравнения (контроле). Частота минорного генотипа *GG* также была выше в группе с СПБ (*GG* 24.0%), чем среди здоровых женщин (*GG* 12.5%). Риск развития привычного невынашивания при минорном генотипе *GG* возрастает в 2,2 раза.

Таблица 5. Частоты генотипов и аллелей (%) по генным полиморфизмам *DNMT1* *rs2228611* и *DNMT1* *rs8101626* в изучаемых группах

Генотипы и аллели	Контроль (n=56)	ППБ (n=100)	OR (95% CI), RR	СПБ (n=50)	OR (95% CI), RR	ППБ (n=50)	OR (95% CI), RR
<i>DNMT1</i> <i>rs2228611</i>							
AA	42.9	30.0*	OR:3.0 (1.44-6.23) RR:1.7	38.0	OR:2.2 (0.96-4.88) RR:1.2	22.0**	OR:3.94 (1.92-8.09) RR:2.2
AG	44.6	40.0		38.0		42.0	
GG	12.5	30.0*		24.0		36.0**	
A	65.2	50.0*		57.0		43.0**	
G	34.8	50.0*		43.0		57.0**	
<i>DNMT1</i> <i>rs8101626</i>							
AA	36.4	28.0	OR:2.5 (1.19-6.85) RR:1.6	30.0	OR:2.7 (1.12-6.36) RR:1.5	26.0	OR:3.1 (1.28-7.43) RR:1.6
AG	52.7	48.0		46.0		50.0	
GG	10.9	24.0		24.0		24.0	
A	62.75	52.0		53.0		51.0	
G	37.25	48.0		47.0		49.0	
AA+AG	89.1	76.0*	OR:2.64 (1.2-5.76) RR:1.9	76.0*	OR:2.64 (1.2-5.76) RR:1.9	76.0*	OR:2.64 (1.2-5.76) RR:1.9
GG	10.9	24.0*		24.0*		24.0*	

* - показатель достоверно отличается от контроля при $p \leq 0,05$

** - показатель достоверно отличается от контроля при ≤ 0.01

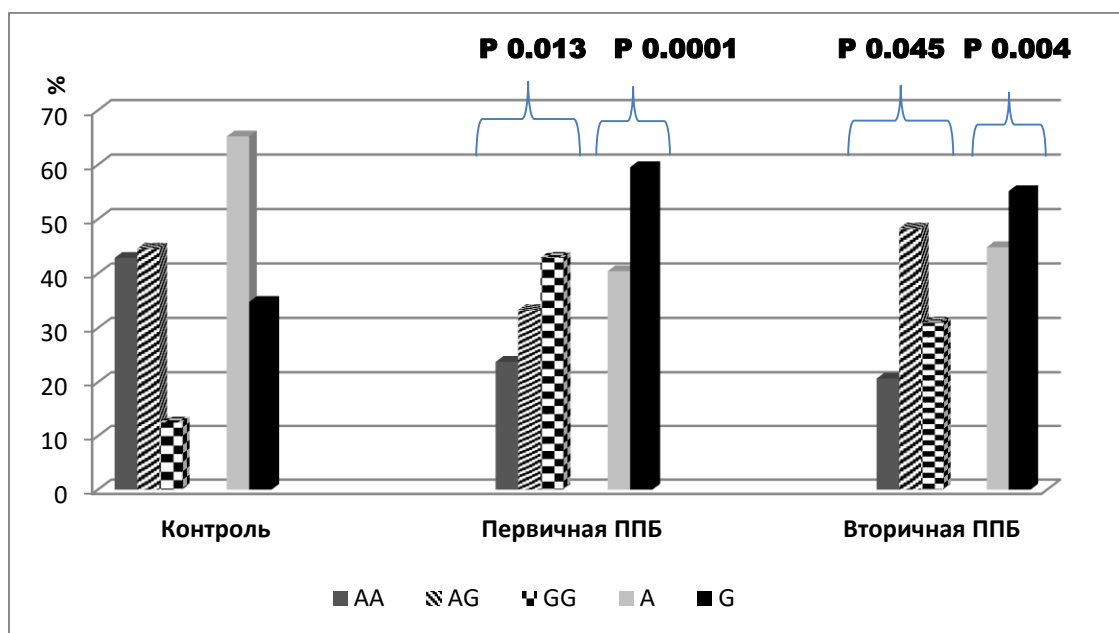


Рис. 1. Частоты аллелей и генотипов (%) по генному полиморфизму *DNMT1* *rs2228611* в контрольной группе и в подгруппах с первичной и вторичной ППБ

Данные, представленные на рисунке 1, демонстрируют достоверные отличия в распределении аллелей и генотипов по полиморфизму *DNMT1 rs2228611* в подгруппах как с первичным, так и вторичным невынашиванием беременности в сравнении с контрольной группой. Наличие гомозиготного генотипа *GG* повышает риск первичной и вторичной ППБ в 2,2 раза.

Также в результате проведенных исследований было обнаружено, что частота генотипа *GG* по полиморфизму *DNMT1 rs8101626* в группах с СПБ и ППБ и, как следствие, в общей группе пациентов, достоверно выше, чем в контроле. Таким образом, у женщин с генотипом *GG* риск ранней потери беременности возрастает в 1,9 раза.

ДНК-метилтрансфераза 1, кодируемая геном *DNMT1*, играет ключевую роль в поддержании паттернов метилирования ДНК в процессе клеточного деления. Генный полиморфизм *DNMT1 rs2228611* расположен в экзоне 17 и представляет собой синонимичную замену. Он находится на расстоянии 10 пн от донорного сайта сплайсинга [Cheng, *et. al.*, 2014] и может влиять на его активность, т.к. замена аденина на гуанин приводит к появлению экзонных энхансеров сплайсинга [Terrazzino, *et. al.*, 2016]. Нами выявлена ассоциация *DNMT1 rs2228611* с привычным невынашиванием беременности. Возможно, повышение экспрессии *DNMT1* приводит к гиперметилированию промоторов ключевых генов, которые должны быть гипометилированы и активны в процессе эмбрионального развития. Более того, предполагается наличие неравновесного сцепления *rs2228611* с *DNMT1 rs8101626* [Mostowska, *et. al.*, 2013]. *DNMT1 rs8101626*, в свою очередь, является полиморфизмом, локализованным в 39-м интроне. Он также может влиять на сплайсинг мРНК, изменяя, таким образом, экспрессию гена [Yang, *et. al.*, 2016, Moyer, *et. al.*, 2011].

2. Белок синаптонемального комплекса SYCP3. Результаты исследований, представленные в таблице 6, показывают, что распределение различных генотипов и аллелей по полиморфизму *SYCP3 T657C (rs769825641)* у женщин со спорадическим выкидышем значительно отличается от соответствующих показателей контрольной группы. Как следствие, частоты генотипов также отличаются и в общей группе пациентов, хотя частота минорного аллеля *C* только имеет тенденцию к увеличению. Установлено, что в группах с СПБ и РПБ встречаемость гетерозиготного генотипа

достоверно выше, чем у здоровых женщин. Полученные данные показали, что при наличии гетерозиготного генотипа риск РПБ и СПБ возрастает в 1,7 раза. Несмотря на тот факт, что отличие в частоте генотипа *CT* не достигало в группе с привычным невынашиванием беременности статистической значимости по сравнению с контролем, его наличие увеличивало риск ППБ в 1,5 раза. Таким образом, можно сделать вывод, что гетерозиготный генотип может выступать генетическим предиктором спорадической потери беременности на раннем сроке.

Таблица 6. Частоты аллелей и генотипов (%) по генному полиморфизму *SYCP3 rs769825641* в изучаемых группах

Генотипы и аллели	Контроль (n=56)	РПБ (n=100)	OR (95 %CI), RR	СПБ (n=50)	OR (95% CI), RR	ППБ (n=50)	OR (95 %CI), RR
<i>SYCP3 rs769825641</i>							
<i>TT</i>	91.1	78.0*	OR:3.45 (1.4-8.52) RR:1.68	74.0*	OR:4.16 (1.71-10.15) RR:1.72	82.0	OR:2.82 (1.12-7.06) RR:1.51
<i>CT</i>	7.1	21.0*		24.0*		18.0	
<i>CC</i>	1.8	1.0		2.0		0.0	
<i>T</i>	94.65	88.5		86.0*		91.0	
<i>C</i>	5.35	11.5		14.0*		9.0	

* - показатель достоверно отличается от контроля при $p \leq 0,05$

Известно, что белок синаптонемального комплекса 3, кодируемый геном *SYCP3*, необходим для осуществления процессов рекомбинации, конъюгации и расхождения хромосом. Генный полиморфизм *SYCP3 rs769825641*, возникающий в результате замены тимина на цитозин, локализован на конце экзона 8. Хотя данная нуклеотидная замена не изменяет аминокислотную последовательность, она может нарушать процесс сплайсинга, приводя к образованию белка с удлинённым С-концом, низкой функциональной активностью и неспособностью к сборке в составе синаптонемального комплекса [Sazegari, *et. al.*, 2014, Bolor, *et. al.*, 2009]. Литературные данные относительно ассоциации указанного полиморфизма с потерей беременности на раннем сроке противоречивы. Так, Е. Mizutani с соавт. в 2011 г. обнаружили, что генотип *CT* не коррелирует с привычным невынашиванием беременности [Mizutani, *et. al.*, 2011]. Н. Bolor и соавт. выявили две функциональные мутации гена *SYCP3 (IVS7-16-19 del ACTT и T657C)* у 2 из 26 женщин с

невынашиванием беременности неустановленной этиологии, в то время как в контрольной группе они обнаружены не были [Bolor, *et. al.*, 2009]. Sazegari A. с соавт. показали, что частота гетерозиготного генотипа и рецессивного аллеля *C* у иранских женщин с ППБ достоверно выше, чем у здоровых [Sazegari, *et. al.*, 2014]. Аналогичные результаты доложили в недавней публикации Svyatova G.S с соавт., проводившие исследования в выборке казахских женщин [Svyatova, *et. al.*, 2019]. Полученные нами результаты в определенной степени согласуются с вышеуказанными работами, т.к. было выявлено повышение частоты гетерозигот в группе с ППБ, хотя отличия и не достигали уровня статистической значимости. Как известно из литературных данных, нерасхождение материнских хромосом обнаруживается в приблизительно 50-70% случаев спорадических выкидышей и 7% случаев привычного невынашивания [Hassold, *et. al.*, 2007, Chaithra, *et al.*, 2011, Hyde and Schust, 2015]. В этой связи для оценки вклада полиморфизма *SYCP3 T657C* в развитие привычного невынашивания мы рекомендуем провести дальнейшие исследования в выборках большей численности.

3. Полиморфизмы генов фолатно-метионинового цикла и генные полиморфизмы, ассоциированные с нарушениями ангиогенеза и наследственной тромбофилией. Согласно данным, представленным на рисунке 2, частоты генотипов по полиморфизму *VEGFA rs699947* в группе с привычным невынашиванием беременности (*CC* 16.0%, *CA* 72.0%, *AA* 12.0%) достоверно ($P=0.029$) отличаются от соответствующих показателей у здоровых женщин (*CC* 30.4%, *CA* 46.4%, *AA* 23.2%). Установлено, что встречаемость гетерозиготного генотипа в группе с ППБ значимо выше, чем в контроле. Белок VEGFA относится к мультифункциональному семейству ростовых факторов и играет важную роль в росте и развитии эмбриона, обеспечивая стимуляцию фетоплацентарного ангиогенеза [Andersen, *et. al.*, 2012, Şamli, *et. al.*, 2012, Sun, *et. al.*, 2017]. Генный полиморфизм *VEGFA -2578C/A (rs699947)* располагается в промоторной области и связан с уменьшением экспрессии гена и снижением продукции соответствующего белка при наличии аденина в позиции -2578 [Mohammadi, *et. al.*, 2003, Şamli, *et. al.*, 2012, Szeto, *at. al.*, 2004]. Следовательно, у гетерозигот уровень VEGFA может быть недостаточным для завершения ангиогенеза, в результате чего нарушается

фетоплацентарная васкуляризация, и беременность прерывается [Marakhovskaya, et. al., 2018]. Этим можно объяснить высокую встречаемость гетерозигот среди женщин с привычным невынашиванием, но остается необъяснимой высокая частота гомозигот *AA* в контрольной группе. Вероятно, в связи с тем, что привычное невынашивание имеет полигенную природу, наличия генотипа *AA* у здоровых женщин недостаточно для прерывания беременности в отсутствие остальных факторов риска.

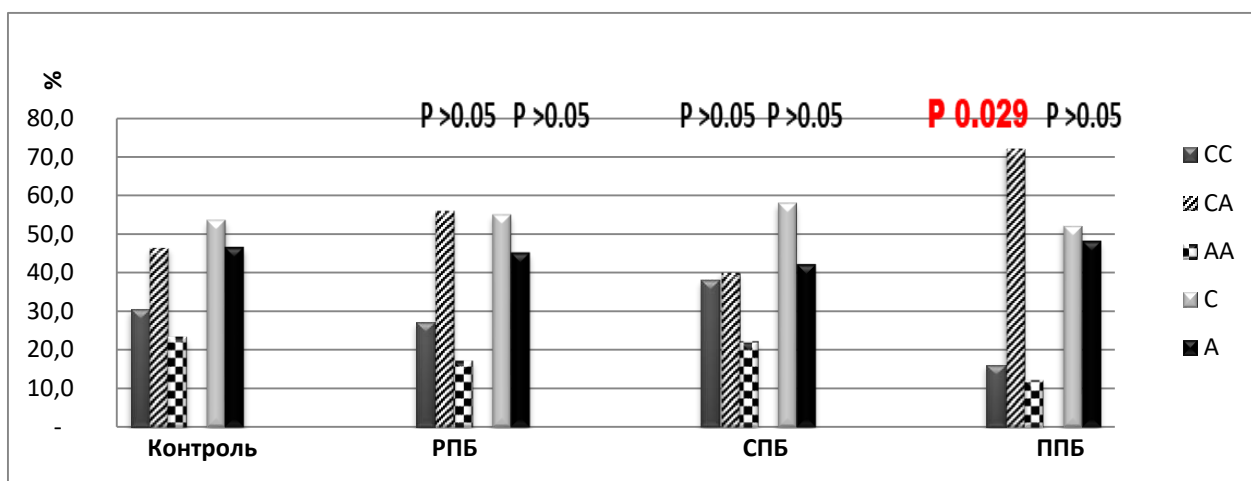


Рис. 2. Частоты аллелей и генотипов (%) по полиморфизму *VEGFA rs699947* в изучаемых группах

При исследовании частот генов и генотипов по другим общеизвестным и широко изучаемым полиморфизмам, связанным с наследственной тромбофилией (*FVL rs6025*, *FII rs1799963*), васкуляризацией плаценты (*VEGFA rs3025039*) и фолатно-метиониновым циклом (*MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394*), значимой ассоциации полиморфных вариантов с потерей беременности на ранних сроках выявлено не было. Полученные результаты подтверждают тот факт, что исследование проводилось среди женщин с идиопатическими репродуктивными потерями.

4. Частоты аллелей и генотипов в популяционной выборке. Частоты генотипов в популяционной выборке по всем генным полиморфизмам за исключением *DNMT3L rs2070565* соответствуют ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга ($P > 0.05$). Согласно полученным данным, минорные

гомозиготные генотипы и минорные аллели по полиморфизмам *DNMT3B rs2424913* (TT 11.1%, T 37.05%), *DNMT3B rs1569686* (TT 16.0%, T 39.5%), *DNMT3A rs7590760* (GG 24.6%, G 50.55%), *DNMT1 rs2228611* (GG 18.5%, G 40.75%) и *DNMT1 rs8101626* (GG 16.0%, G 40.1%) в исследованной выборке встречаются с достаточно высокой частотой. Несмотря на то, что минорные гомозиготные генотипы по полиморфным вариантам *SYCP3 T657C* и *DNMT3L rs2276248* не были выявлены, гетерозиготы встречались с умеренной частотой (12.3% и 6.2%, соответственно). Безусловный интерес представляет тот факт, что встречаемость гетерозиготного генотипа и минорного аллеля по полиморфизму *DNMT3L rs2070565* высока (GA 86.4%, A 48.2%), в то время, как минорный гомозиготный генотип довольно редок (AA 4.9%). Более того, как было упомянуто выше, частоты генотипов по данному полиморфизму не находятся в равновесии Харди-Вайнберга, что требует дальнейшего изучения.

С высокой частотой также встречаются минорные генотипы и минорные аллели по полиморфным вариантам *MTRR rs1801394* (GG 27.2%, G 50.65%), *VEGFA rs699947* (AA 17.3%, A 42.0%), *MTHFR rs1801131* (CC 17.3%, C 40.15%) и *MTHFR rs1801133* (TT 11.1%, T 29.0%), в то время как частота минорного генотипа и аллеля по *MTR rs1805087* среди участников исследования умеренная (GG 5.0 %, G 21.65%). Минорный генотип по *VEGFA rs3025039* был редким (TT 1.3%), хотя минорный аллель встречался умеренно часто (T 12.4%). Минорный генотип AA по полиморфизму *FII rs1799963* не был обнаружен, но гетерозиготный генотип и минорный аллель встречались с низкой частотой (GA 3.7%, A 1.85%).

Как видно из рисунка 3, частоты минорных генотипов и аллелей по полиморфным вариантам *DNMT1 rs8101626*, *DNMT3B rs2424913* и *DNMT3A rs7590760* были сходны с таковыми для *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTRR rs1801394* и *VEGFA rs699947*, но выше, чем в случае *VEGFA rs3025039*, *MTR rs1805087*, *FVL rs6025* и *FII rs1799963*. Во множестве работ, выполненных по всему миру, показано, что полиморфизмы *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394*, *VEGFA rs699947*, *VEGFA rs3025039*, *FII rs1799963* и *FVL rs6025* ассоциированы с ранними репродуктивными потерями, и, в том числе, с привычным невынашиванием, в связи с чем они рекомендованы к использованию в качестве генетических предикторов ППБ в рутинных

исследованиях [Voronin, *et. al.*, 2015, Mtiraoui, *et. al.*, 2006, Cao, *et. al.*, 2014, Nair, *et. al.*, 2013, Ozdemir, *et. al.*, 2012, Bae, *et. al.*, 2007, Kim, *et. al.*, 2013, Татаркова Е.А. и соавт., 2016, Marakhovskaya, *et. al.*, 2018, Eller, *et. al.*, 2011, Xu, *et. al.*, 2015, Osman and Abulata, 2015, Mierla, *et. al.*, 2012]. Проведенное нами исследование типа «случай-контроль» продемонстрировало, что *DNMT1 rs2228611*, *DNMT3B rs2424913* и *DNMT1 rs8101626* также ассоциированы с РПБ и ППБ. Сопоставимость распределения данных полиморфизмов среди русских женщин позволяет нам рекомендовать *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611* и *DNMT1 rs8101626* в качестве новых генетических предикторов, которые наряду с рекомендованными ранее, могут быть использованы для прогнозирования привычного невынашивания беременности, а *SYCP3 T657C* – для прогнозирования спорадических репродуктивных потерь.

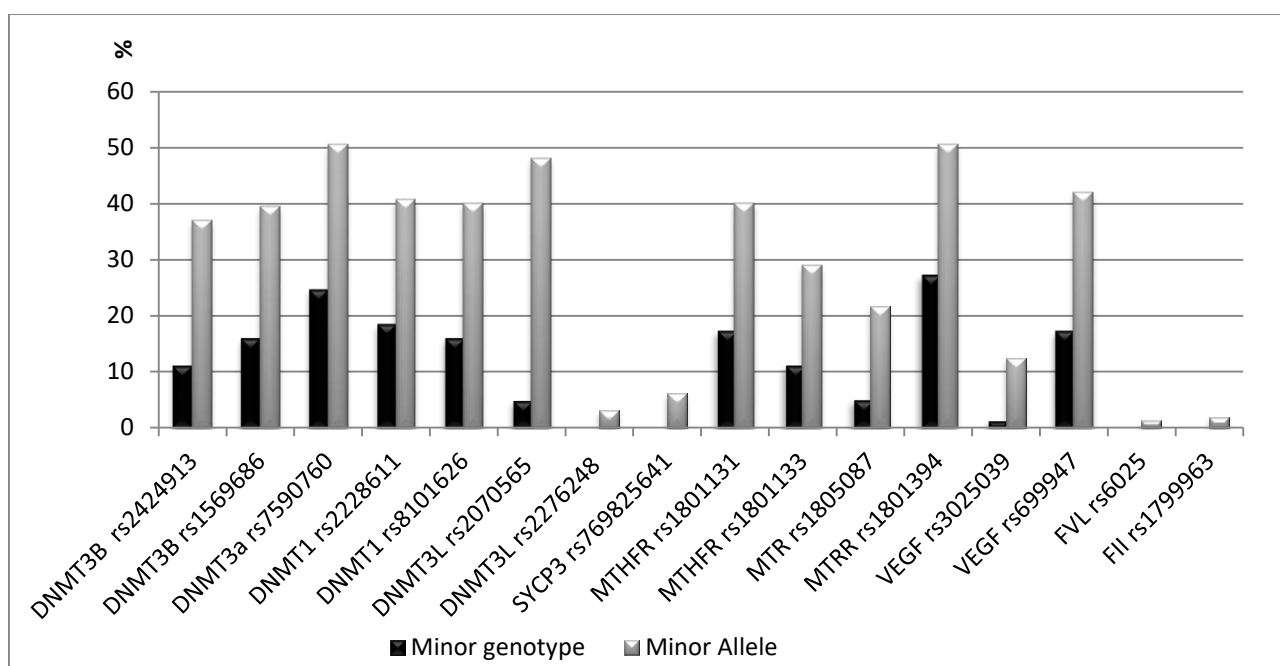


Рис. 3. Частоты минорных аллелей и генотипов (%) по исследованным полиморфизмам в популяционной выборке

Встречаемость генотипов и аллелей по полиморфизмам *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087* и *MTRR rs1801394* соответствуют данным, полученным ранее в Европе и России [de Vogel, *et. al.*, 2009, Третьякова Т.Б. и Демченко Н.С, 2018]. Параметры по *VEGFA rs3025039*, *VEGFA rs699947*, *FII rs1799963* и *FVL rs6025* также сходны с таковыми в Европе и Турции [Parazoglou,

et. al., 2005, Şamli, *et. al.*, 2012, Mierla, *et. al.*, 2012, Hohlagschwandtner, *et. al.*, 2003]. Таким образом, распределение генотипов и аллелей по изученным нами полиморфизмам согласуется с данными, полученными ранее для европейских, российских и некоторых других популяций, что говорит о репрезентативности изученной выборки женщин русской национальности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования, выполненные в рамках представленной диссертационной работы, были направлены на изучение частот генотипов и аллелей по некоторым генным полиморфизмам (*DNMT3B rs2424913*, *DNMT3B rs1569686*, *DNMT3A rs7590760*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626*, *DNMT3L rs2276248*, *DNMT3L rs2070565*, *SYCP3 rs769825641*, *FII rs1799963*, *FVL rs6025*, *MTHFR* и *VEGFA rs3025039*) и выявление их ассоциации с потерей беременности на ранних сроках у женщин русской национальности. Полученные результаты позволяют подвести следующие итоги:

1. Минорный аллель *T* и минорный гомозиготный генотип *TT* по генному полиморфизму *DNMT3B rs2424913* ассоциированы с повышенным риском ранних репродуктивных потерь.

2. Минорный аллель *G* и минорный гомозиготный генотип *GG* по генному полиморфизму *DNMT1 rs2228611* значимо чаще встречаются среди женщин с привычным невынашиванием беременности, в то время, как гомозиготный генотип *GG* по полиморфному варианту *DNMT1 rs8101626* ассоциирован как со спорадической, так и повторной потерей беременности на ранних сроках.

3. Гетерозиготность по полиморфному локусу *VEGFA rs699947* предрасполагает к привычному невынашиванию беременности.

4. Гетерозиготный генотип по генному полиморфизму *SYCP3 rs769825641* значимо повышает риск спорадической потери беременности на ранних сроках.

5. Полиморфные варианты *DNMT3A rs7590760* и *DNMT3L rs2276248* не ассоциированы с ранними репродуктивными потерями.

6. Распределение аллелей и генотипов по генным полиморфизмам *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626* и *SYCP3 rs769825641* среди

женщин русской национальности сопоставимо с таковым для общеизвестных полиморфизмов, ассоциированных с повышенным риском потери беременности

Практические рекомендации

1. Генные полиморфизмы *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626* могут быть рекомендованы в качестве генетических предикторов привычного невынашивания беременности.
2. Гетерозиготность по полиморфному локусу *SYCP3 rs769825641* может рассматриваться как фактор, предрасполагающий к спорадической потере беременности на ранних сроках.

Перспективы дальнейших исследований

1. Проведение генетических исследований, направленных на изучение частот аллелей и генотипов по полиморфизмам *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626* в материале, полученном из абортированного плода и у мужчин в парах с ранними репродуктивными потерями.
2. Кариотипирование абортированного плода от матерей, гетерозиготных по полиморфному варианту *SYCP3 rs769825641*.
3. Исследование распределения аллелей и генотипов по генным полиморфизмам *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626* и *SYCP3 rs769825641* в других этнических группах.
4. В связи с тем, что *SYCP3 rs769825641* значимо ассоциирован со спорадической потерей беременности, но вместе с тем достаточно часто встречается и среди женщин с привычным невынашиванием беременности, желательно провести дальнейшие исследования в более крупных выборках женщин русской национальности с повторными репродуктивными потерями.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ahmed A.A., Azova M.M. Distribution of the T657C polymorphism of the SYCP3 gene among Russian women living in Central Russia // Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Агаджаньяновские чтения = Aghajanian's reading». М., РУДН, 2018. pp 37-38.
2. Lapaev N.N., Ahmed A.A., Azova M.M., Gigani O.O., Gigani O.B., Aghajanyan A.V., Syatkin S.P. Prevalence of DNMT3B 149 C>>T and SYCP3 T657C polymorphisms among Russian women // FEBS OPEN BIO. 2018; 8 (S1): p 113.

3. Muradian A.A., Ahmed A.A., Azova M.M., Ait Aissa A., Gigani O.B., Aghajanyan A.V., Tskhovrebova L.V., Syatkin S.P. Association of DNMT1 rs8101626 polymorphism with the early miscarriage in Russian women // FEBS OPEN BIO. 2019; 9 (S1): p 97.
4. Azova M.M., Ahmed A.A., Ait Aissa A., Blagonravov M.L. Association of DNMT3B and DNMT3L gene polymorphisms with early pregnancy loss // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2019; 167(4): pp 475-478. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04553-6> (WoS / SCOPUS)
5. Ahmed A.A.M., Muradian A.A., Azova M.M. Prevalence of some gene polymorphisms related to early pregnancy loss among Russian women. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2019; 23 (4): pp 381—389. doi: 10.22363/2313-0245-2019-23-4-381-389
6. Ahmed A.A.M., Ramazanov F.U., Gigani O.B., Azova M.M. The association of SYCP3 T657C polymorphism with early pregnancy loss in Russian women // Медицинская генетика. 2019;18(12):21-24. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.12.21-24>
7. Ahmed A. A. M., Azova M. M., Ramazanov F. U., Gigani O.B. DNMT1 and DNMT3A gene polymorphisms and early pregnancy loss. Russian Journal of Genetics, 2020; 56(3): pp 379–382. <https://doi.org/10.1134/S1022795420030023> (WoS / SCOPUS)

Список сокращений

<p>DNMT – DNA Methyltransferase</p> <p>FII – Factor II (Prothrombin)</p> <p>FVL – Factor V Leiden</p> <p>MTHFR – Methylene tetrahydrofolate reductase</p> <p>MTR – Methionine synthase</p> <p>MTRR – Methionine synthase reductase</p> <p>OR – Odds ratio (отношение шансов)</p> <p>RR – Relative risk (относительный риск)</p>	<p>SYCP – Synaptonemal complex protein</p> <p>VEGF – Vascular endothelial growth factor</p> <p>ППБ – Повторная потеря беременности</p> <p>ПЦР – Полимеразная цепная реакция</p> <p>РПБ – Ранняя потеря беременности</p> <p>п.н. – пара нуклеотидов</p> <p>СПБ – Спорадическая потеря беременности</p>
--	---

РЕЗЮМЕ

кандидатской диссертации Ахмед Абдулбари Амин Махюп

«Генные полиморфизмы, ассоциированные с привычным невынашиванием беременности у русских женщин»

Представленная работа направлена на выявление полиморфных вариантов генов, ассоциированных с ранними репродуктивными потерями у женщин русской национальности, проживающих в Центральной России. Обнаружены малоизученные в этой связи полиморфизмы, ассоциированные с привычным

невынашиванием беременности (*DNMT1 rs2228611*), спорадической потерей беременности (*SYCP3 rs769825641*) и ранними репродуктивными потерями в целом (*DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs8101626*). Исследование, проведенное в популяционной выборке, продемонстрировало, что распределение аллелей и генотипов по указанным генным полиморфизмам среди женщин русской национальности сопоставимо с таковым для общеизвестных полиморфизмов, ассоциированных с повышенным риском потери беременности (*MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394*, *VEGFA rs699947*, *VEGFA rs3025039*, *FII rs1799963* и *FVL rs6025*). Полученные результаты позволяют рекомендовать *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626* и *SYCP3 rs769825641* в качестве генетических предикторов потери беременности на ранних сроках.

SUMMARY

of the dissertation “Gene polymorphisms associated with recurrent miscarriage in Russian women” by Ahmed Abdulbary Amin Mahuop

The research was aimed at identifying gene polymorphisms associated with early miscarriage in Russian women living in Central Russia. Insufficiently studied polymorphisms associated with recurrent miscarriage (*DNMT1 rs2228611*), sporadic pregnancy loss (*SYCP3 rs769825641*) and early reproductive losses in general (*DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs8101626*) were found. The study carried out in a population sample showed that the distribution of alleles and genotypes for the mentioned gene polymorphisms among Russian women is comparable to that for the well-known polymorphisms associated with an increased risk of pregnancy loss (*MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394*, *VEGFA rs699947*, *VEGFA rs3025039*, *FII rs1799963*, and *FVL rs6025*). The obtained results allow us to recommend *DNMT3B rs2424913*, *DNMT1 rs2228611*, *DNMT1 rs8101626*, and *SYCP3 rs769825641* as genetic predictors of early pregnancy loss.