

УДК 611.013.85.018:57.088.7]:618.3-06:616.98:578.834.1SARS-CoV-2

## ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЕЙ НОРМАЛИЗОВАННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АПОПТОЗА В ПЛАЦЕНТЕ РОДИЛЬНИЦ С COVID-19

Полуян О.С., Костюк С.А.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь*

Ежегодно в мире рождается около 15 миллионов недоношенных детей, а преждевременные роды остаются одной из основных проблем акушерства, которая носит как социальный, так и медицинский характер в связи с высоким риском детской смертности и многочисленными осложнениями для здоровья как матери, так и ребенка. В настоящей статье авторы представили данные по определению уровней нормализованной экспрессии генов апоптоза *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* в образцах тканей плаценты родильниц с COVID-19 с использованием разработанного и клинически апробированного молекулярно-генетического метода. Показано, что уровни нормализованной экспрессии генов апоптоза статистически значимо ( $p < 0,05$ ) различаются в зависимости от сроков инфицирования COVID-19.

**Ключевые слова:** плацента; ген апоптоза; ПЦР; уровень нормализованной экспрессии; COVID-19.

**Введение.** Апоптоз один из процессов, описывающих естественное возникновение клеточной гибели в организме [1]. Происходит при различных патологических состояниях, в том числе осложнений беременности, таких как преэклампсия, плацентарная недостаточность и спонтанные выкидыши [2]. Апоптоз плаценты, как и других тканей, запрограммированный процесс естественного развития. Роль апоптоза хорошо изучена для таких процессов, как инвазия трофобласта или ремоделирование спиральных артерий. Кроме того, несостоятельность апоптоза может привести к развитию и/или прогрессированию различных патологических процессов, включая осложнения беременности. Доказано, что апоптоз способствует спонтанным выкидышам, преэклампсии, плацентарной недостаточности и преждевременному разрыву плодных оболочек [1; 2]. Более того, активация апоптоза приводит к преждевременным родам на фоне инфицирования [3]. Тем не менее до настоящего времени нет достоверных данных о причинно-следственной связи между плацентарным апоптозом и преждевременными родами вне инфекционного процесса.

Согласно литературе, существуют внешние и внутренние пути апоптоза [3]. Ввиду того, что наличие воспалительного процесса в маточно-плацентарном комплексе приводит к возникновению преждевременных родов [1; 3], даже при исключении инфекционного фактора [1], возникает предположение, что апоптоз, приводящий к преждевременным родам, может быть индуцирован TNF- $\alpha$  или Fas/Fas-лиган-

дом. Таким образом, наиболее информативным научным подходом будет изучение внешнего пути апоптоза, в частности *CAS-8*, в качестве иницирующей каспазы, эффекторной *CAS-3*, участвующей в обоих путях апоптоза, а также X-связанного ингибитора апоптоза (*XIAP*), ингибитора *CAS-3* [4].

В настоящее время проводятся многочисленные исследования по установлению причин преждевременного спонтанного начала родов. Понимание патогенеза преждевременных родов позволит разработать целенаправленное лечение, предотвращающее или контролирующее этот процесс. Факторы риска развития преждевременных родов хорошо изучены [1; 5], установлены патогенетические механизмы [4], изучены гормональные изменения, генетические и иммунологические факторы [3], доказана роль провоспалительных цитокинов и полиморфизма генов [1; 3], роль Toll-подобных рецепторов. Однако патогенетические аспекты непосредственно спонтанного начала преждевременных сокращений матки малоизучены.

До настоящего времени нет достаточного количества данных, касающихся точных патогенетических механизмов развития патологического процесса в плаценте при COVID-19. Одиночные публикации указывают на то, что при инфекции COVID-19 виремия и вирусная инвазия в плаценту сопровождаются плацентитом, цитокиновым штормом (который поражает плацентарные клетки), образованием тромбов (приводящих к инфаркту и ишемии) и апоптозом [5]. Проведенный в 2017 г. систематический обзор и метаанализ преэклампсии

позволил установить, что аномалии плаценты у женщин с преэклампсией в семь раз выше, чем у женщин при нормальной беременности, и не являются специфическими. При этом основные патологические признаки в плаценте беременных женщин с преэклампсией ишемия, воспаление и апоптоз [6].

При апоптозе CAS-3 играет решающую роль в снижении митохондриальной функции, приводя к апоптозу [3]. При преэклампсии воспалительная реакция в основном происходит в плаценте и приводит к перинатальной заболеваемости и смертности [4]. Несмотря на низкий уровень воспалительной реакции, он характеризуется хроническим длительным течением, вызывая системное эндотелиальное сосудистое повреждение [5]. Основное отличие от COVID-19-индуцированного воспаления заключается в остром и массивном выбросе цитокинов (цитокиновый шторм), вследствие которого происходит массивный тромбоз с последующим формированием полиорганной недостаточности [6]. Таким образом сосудистое повреждение, воспаление и тромбоз приводят к ишемии и инфаркту, за ними следует увеличение синтеза факторов апоптоза и некроза [4; 5; 6].

**Цель работы** – определить уровни нормализованной экспрессии генов апоптоза *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* в парафинизированных образцах тканей плаценты родильниц с COVID-19 с использованием разработанного молекулярно-генетического метода.

**Материалы и методы.** Для молекулярно-генетических исследований в качестве биологического материала использовали парафинизированные образцы тканей плаценты.

Выделение РНК из парафинизированных образцов тканей плаценты проводилось набором реагентов «ReliaPrep FFPE Total RNA Miniprep System» (Promega, США).

Для определения концентрации РНК и степени чистоты выделенной нуклеиновой кислоты проводили спектрофотометрические исследования (NanoDrop 1000, Thermo scientific, США) на длине волны  $\lambda = 230$  нм. Степень чистоты выделенной РНК оценивали по соотношениям 260/280 и 260/230. Полученный раствор после оценки качества РНК подвергали обратной транскрипции. Полученную в результате обратной транскрипции кДНК использовали для постановки ПЦР в режиме реального времени с участием специально подобранных пар праймеров для каждого гена, включая house-keeping ген, с использованием программного обеспечения VectorNTI.

Расчет уровней нормализованной экспрессии (УНЭ) таргетных генов провоспалительных цитокинов осуществляли по формуле (1):

$$\begin{aligned} \% \text{ уровня экспрессии} &= \\ &= 2^{-(Ct \text{ интересующего гена} - Ct \text{ гена GAPDH})} \times 100\%, \end{aligned} \quad (1)$$

где  $Ct$  – пороговый цикл [7].

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ «SPSS версия 16» (SPSS Inc.). Все количественные данные имели непараметрическое распределение (проверку на нормальность проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова) и представлены в виде значений медианы и квартилей (Me (Q25/75)). Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принят уровень  $p < 0,05$  [8].

## Результаты и их обсуждение

На первом этапе для анализа возможности использования подобранных пар праймеров (табл. 1) при определении экспрессии генов апоптоза *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP*, проводили мо-

Таблица 1 – Выбранные последовательности олигонуклеотидных праймеров специфических участков генов апоптоза и house-keeping генов

№	Название олигонуклеотида	Количество, ОЕ <sub>260</sub>	Последовательность олигонуклеотида, 5' → 3'
1	Cas3-F	1	ATGGAAGCGAATCAATGGACTCT
2	Cas3-R	1	CTGCATCGACATCTGTACCAGA
3	Cas8-F	1	CCTCCCTCAAGTTCTGAGCCT
4	Cas8-R	1	TTCCCTTTCCATCTCCTCCTTTCT
5	XIAP-F	1	ATTGCCTTTCTGCTACATT
6	XIAP-R	1	CCATTCAACACCTGTGTAAT
7	GAPDH-F	1	ATCATCCCTGCCTCTACTGG
8	GAPDH-R	1	CCCTCCGACGCCTGCTTCAC

Окончание табл. 1

№	Название олигонуклеотида	Количество, ОЕ <sub>260</sub>	Последовательность олигонуклеотида, 5' → 3'
9	HGUS-F	1	CTCATTTGGAATTTTGCCGATT
10	HGUS-R	1	CCGAGTGAAGATCCCCTTTTTA
11	$\beta$ -actin-F	1	CGTACCACTGGCATCGTGAT
12	$\beta$ -actin-R	1	GTGTTGGCGTACAGGTCTTTG
13	HPRT1-F	1	CCTTGGTCAAGCAGTATAATC
14	HPRT1-R	1	GGGCATATCCTACAACAAC

ноплексную ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Амплификацию для каждого гена проводили в 10 случайных образцах, пробы ставили в дублях.

Для проведения обратной транскрипции и ПЦР в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) одношаговым методом использовали набор реагентов «Премикс ArtMix-RT ревертаза» («АртБиоТех», Республика Беларусь).

Состав реакционной смеси: 5 мкл реагента ArtMix-RT (5-ти кратная смесь), 0,5 мкл forward-праймера (в концентрации 50 мкМ), 0,5 мкл reverse-праймера (в концентрации 50 мкМ), 5 мкл выделенной РНК-матрицы, 14,0 мкл воды, обработанной диэтилпирикарбонатом (DEPC); конечный объем – 25 мкл.

Температурный профиль амплификации: 52 °С – 45 мин; 95 °С – 2 мин; 95 °С – 10 с, 60 °С – 60 с (40 циклов); плавление 60–95 °С с использованием термоциклера «Rotor-Gene-6000» («Corbett research», Австралия).

Сиквенс-анализ проводили с использованием набора реагентов BigDye Terminator Cycle Sequencing kit v3.1 («Applied Biosystems», США) и forward-праймера для каждого гена. Отсеквенированные фрагменты ДНК подвергались очистке с использованием DyeEx 2.0 Spin kit («Qiagen», Германия) и последующему электрофоретическому анализу на генетическом анализаторе ABI Prism 310 («Applied Biosystems», США) [9].

Полученные данные о нуклеотидной последовательности образцов сравнивали с зарегистрированными последовательностями анализируемых генов в онлайн-поисковой системе BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html)) для идентификации принадлежности той или иной последовательности к определенному гену. Все анализируемые образцы имели 100 %-ную гомологию с зарегистрированными в базе данных последовательностями, что свидетельствовало о 100 %-ной специфичности разработанной методики [9].

Для оценки эффективности протекания ПЦР проводили амплификацию 10-кратных разведений образцов кДНК, для построения стандартной кривой. Концентрацию кДНК в неразведенном образце условно принимали за 100 и делали 2 разведения (10, 1). Амплификацию проб проводили в дублях.

При анализе результатов амплификации проводили построение стандартной кривой корреляции между значениями пороговых циклов Ct и log10 условной концентрации кДНК для изучаемых генов.

Количественное определение house-keeping генов проводили в тех же образцах, в которых оценивали амплификацию исследуемых таргетных генов, для оценки концентрации применяли плазмидный стандарт. Амплификацию всех проб проводили в дублях, для расчета коэффициента вариации использовали средние значения концентраций.

В ходе оценки эффективности протекания реакции амплификации генов *GAPDH*, *HGUS*,  *$\beta$ -actin* и *HPRT1* установлено: для дальнейшей клинической апробации метода следует использовать ген *GAPDH* в связи с получением наибольших значений эффективности протекания реакции. Сравнение эффективностей протекания реакции для референсного гена *GAPDH* и исследуемых таргетных генов *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* позволило сделать вывод о возможности проведения мультиплексной ПЦР для одновременной амплификации таргетного и референсного генов в одной пробирке.

В ходе оптимизации мультиплексной ПЦР-РВ в одной пробирке одновременно амплифицировали один из исследуемых генов (*CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP*) и референсный ген *GAPDH*. В пробирки для амплификации вносили: 5 мкл реагента ArtMix-RT (5-ти кратная смесь), 0,2 мкл таргетного forward-праймера (в концентрации 50 мкМ), 0,2 мкл таргетного reverse-праймера (в концентрации 50 мкМ), 0,2 мкл forward-праймера гена *GAPDH* (в кон-

центрации 50 мкМ), 0,2 мкл reverse-праймера гена *GAPDH* (в концентрации 50 мкМ), 5 мкл выделенной РНК-матрицы, 14,2 мкл воды, обработанной диэтилпиокарбонатом (DEPC); конечный объем – 25 мкл. Температурный профиль амплификации был выбран следующий: ревертирование: 52 °С – 30 мин; 1 цикл: 94 °С – 2 мин; 45 циклов: 94 °С – 15 с, 60 °С – 30 с; плавление 60–95 °С.

Для клинической апробации разработанного молекулярно-генетического метода определения уровней нормализованной экспрессии генов апоптоза *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* в качестве биологического материала использовали по 20 парафинизированных образцов тканей

циклов *St* исследуемых генов, для сравнения уровней экспрессии.

Расчет уровней нормализованной экспрессии (УНЭ) таргетных генов осуществляли по формуле (1).

На основании молекулярно-генетических исследований с использованием разработанного метода были установлены уровни нормализованной экспрессии (табл. 2) генов апоптоза *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* в образцах материнской и плодной части плаценты родильниц с COVID-19. Статистически значимых достоверных различий (критерий Манна–Уитни) в уровнях экспрессии в зависимости от вида биологического материала не выявлено.

Таблица 2 – Уровни нормализованной экспрессии генов *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* в различных эпитопах плаценты родильниц с COVID-19

Исследуемый ген	Me (Q25/75), %	Me (Q25/75)	Критерий Манна-Уитни (Z, p)
	материнская часть плаценты	плодовая часть плаценты	
<i>CAS-3</i>	261 (215/689)	248 (201/607)	Z = –0,514, p = 0,265
<i>CAS-8</i>	161 (49/504)	176 (52/611)	Z = –0,873, p = 0,442
<i>XIAP</i>	328 (218/953)	336 (207/1011)	Z = –0,932, p = 0,655

плаценты родильниц с COVID-19 параллельно для материнской и плодной частей.

При определении концентрации РНК установлено, что во всех образцах содержание нуклеиновой кислоты составило 22–79 нг/мкл, что приемлемо для проведения этапа обратной транскрипции. Соотношение 260/280 и 260/230 составило 1,92–1,97 и 2,11–2,15 соответственно, что свидетельствует о высокой степени чистоты выделенной РНК.

Для проведения обратной транскрипции с последующей количественной ПЦР в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) одношаговым методом использовали набор реагентов ArtMix-RT (ООО «АртБиоТех», Беларусь), специально подобранные пары праймеров (ОДО «Праймтех», Беларусь) для каждого гена, включая house-keeping ген; постановку реакции ОТ-ПЦР-РВ осуществляли с использованием термоциклера-амплификатора «Rotor-Gene-6000» («Corbett research», Австралия) с соответствующим программным обеспечением.

В каждой пробирке проводили амплификацию одного из исследуемых генов (*CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP*) и house-keeping гена человека *GAPDH*, относительного которого проводилась нормализация, по значениям пороговых

При проведении аналогичных исследований с использованием в качестве биологического материала объединенного биологического материала материнской и плодной частей плаценты уровни нормализованной экспрессии генов *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* составили 253 (209/655), 169 (51/567) и 332 (211/988) % соответственно. Статистически значимых (p < 0,05) достоверных различий при сравнении данных объединенного вида биологического материала как с материнской, так и с плодовой частью плаценты также не выявлено.

Таким образом, на основании полученных данных нами установлено, что для дальнейших исследований по определению уровней нормализованной экспрессии генов апоптоза в качестве биологического материала следует использовать одновременно и материнскую, и плодовую часть плаценты.

На первом этапе анализ данных молекулярно-генетических исследований по определению уровней нормализованной экспрессии генов апоптоза проводился для основной группы беременных женщин вне зависимости от сроков инфицирования SARS-CoV-2 и группы сравнения.

Уровни нормализованной экспрессии гена *CAS-3* для группы беременных женщин с признаками инфицирования COVID-19 составили

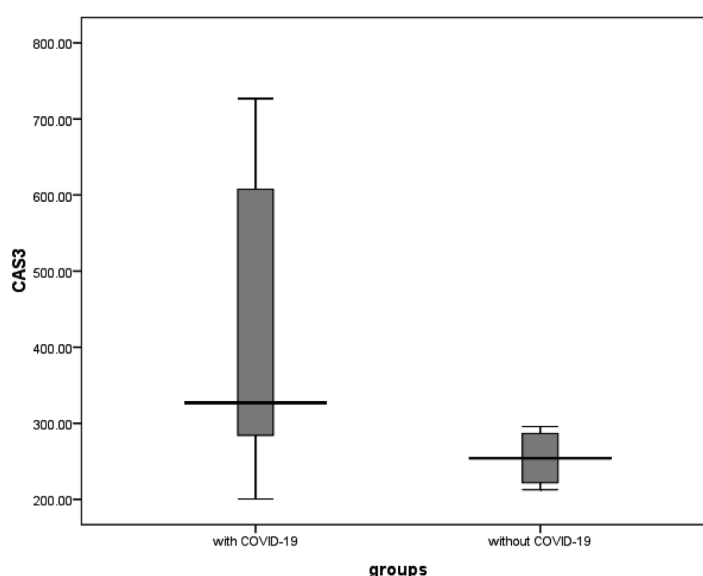


Рис. 1. Уровни нормализованной экспрессии гена *CAS-3* в образцах плаценты родильниц основной группы и группы сравнения

Me (Q25/75) 327,06 (283,13/308,36) %, для группы беременных женщин без признаков инфицирования COVID-19 – 254,17 (221,82/286,56) % (рис. 1).

Использование непараметрического критерия Манна–Уитни позволило выявить наличие статистически значимых различий по показателю «уровень нормализованной экспрессии гена *CAS-3*» между группами 1–2 ( $Z = -5,623$ ,  $p < 0,001$ ).

Уровни нормализованной экспрессии гена *CAS-8* для группы беременных женщин с при-

знаками инфицирования COVID-19 составили Me (Q25/75) 224,14 (180,43/747,19) %, для группы беременных женщин без признаков инфицирования COVID-19 – 153,09 (129,63/189,99) % (рис. 2).

Использование непараметрического критерия Манна–Уитни позволило выявить наличие статистически значимых различий по показателю «уровень нормализованной экспрессии гена *CAS-8*» между группами 1–2 ( $Z = -5,007$ ,  $p < 0,001$ ).

Уровни нормализованной экспрессии гена *XIAP* для группы беременных женщин

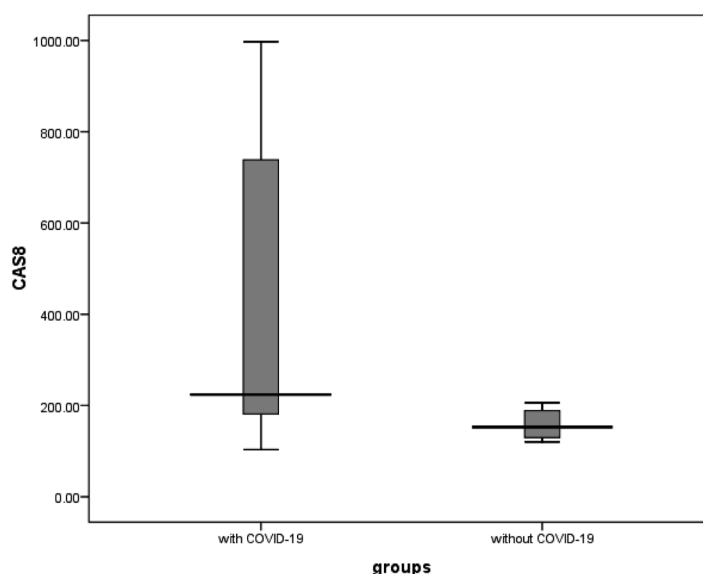


Рис. 2. Уровни нормализованной экспрессии гена *CAS-8* в образцах плаценты родильниц основной группы и группы сравнения



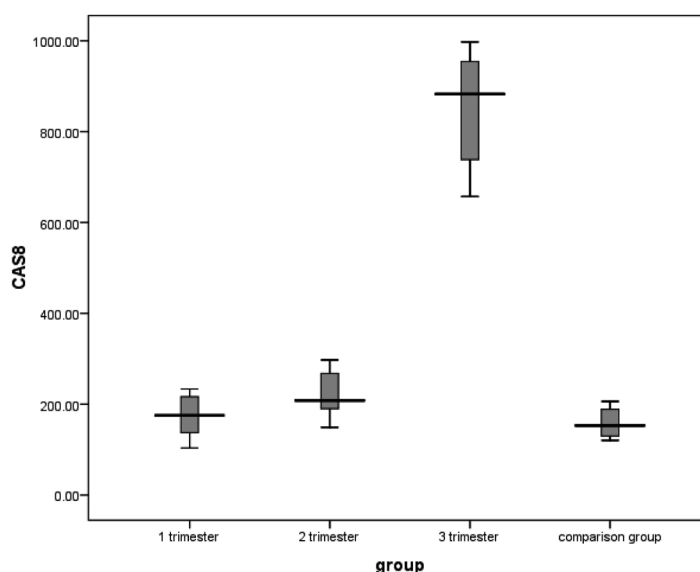


Рис. 5. Уровни нормализованной экспрессии гена *CAS-8* в образцах плаценты родильниц основной группы (в зависимости от сроков инфицирования SARS-CoV-2) и группы сравнения

с признаками инфицирования COVID-19 составили Ме (Q25/75) 404,20 (348,64/547,96) %, для группы беременных женщин без признаков инфицирования COVID-19 – 270,48 (231,38/299,38) % (рис. 3).

Использование непараметрического критерия Манна–Уитни позволило выявить наличие статистически значимых различий по показателю «уровень нормализованной экспрессии гена *XIAP*» между группами 1–2 ( $Z = -6,591$ ,  $p < 0,001$ ).

На следующем этапе был проведен статистический анализ данных молекулярно-генетических исследований по определению

уровней нормализованной экспрессии генов апоптоза в зависимости от срока инфицирования SARS-CoV-2 (инфицирование в I, II или III триместрах беременности).

Уровни нормализованной экспрессии гена *CAS-3* для группы беременных женщин с признаками инфицирования COVID-19 в I триместре беременности составили Ме (Q25/75) 270,12 (238,06/310,28) %, во II триместре беременности – 316,37 (288,12/367,95) %, в триместре беременности – 645,56 (606,44/707,04) % (рис. 4).

Использование непараметрического критерия Манна–Уитни позволило выявить ста-

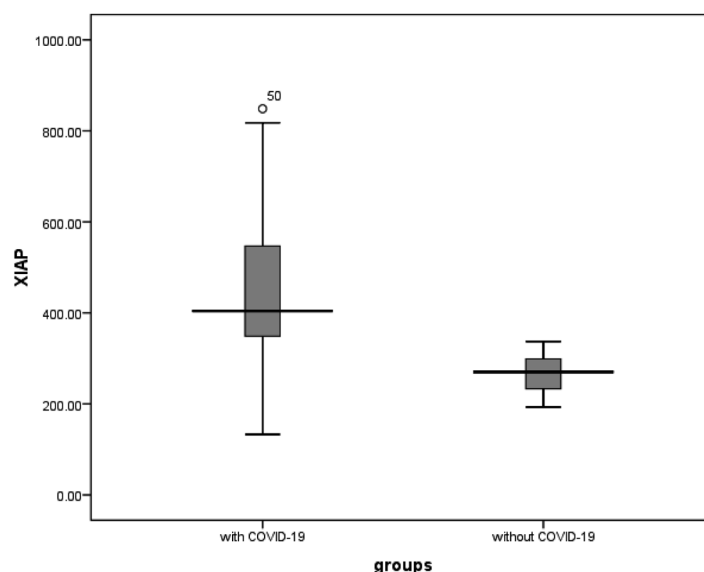


Рис. 3. Уровни нормализованной экспрессии гена *XIAP* в образцах плаценты родильниц основной группы и группы сравнения

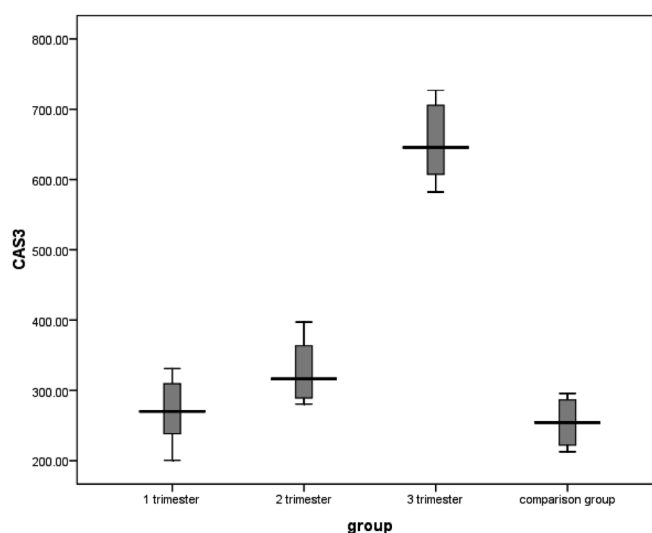


Рис. 4. Уровни нормализованной экспрессии гена *CAS-3* в образцах плаценты родильниц основной группы (в зависимости от сроков инфицирования SARS-CoV-2) и группы сравнения

статистически значимые различия по показателю «уровень нормализованной экспрессии гена *CAS-3*» для групп 1–2 ( $Z = -3,300$ ,  $p = 0,001$ ), 1–3 ( $Z = -5,410$ ,  $p < 0,001$ ), 2–3 ( $Z = -5,410$ ,  $p < 0,001$ ), тогда как для групп 1–4 различий не выявлено ( $Z = -1,941$ ,  $p = 0,052$ ).

Уровни нормализованной экспрессии гена *CAS-8* для группы беременных женщин с признаками инфицирования COVID-19 в I триместре беременности составили Ме (Q25/75) 175,53 (132,59/217,31) %, во II триместре беременности – 208,20 (187,254/270,43) %, в III триместре беременности – 882,96 (729,70/961,87) % (рис. 5).

Использование непараметрического критерия Манна–Уитни позволило выявить от-

сутствие статистически значимых различий по показателю «уровень нормализованной экспрессии гена *CAS-8*» для групп 1–2 ( $Z = -2,462$ ,  $p = 0,014$ ), 1–3 ( $Z = -5,410$ ,  $p < 0,001$ ), 2–3 ( $Z = -5,410$ ,  $p < 0,001$ ), тогда как для групп 1–4 различий не выявлено ( $Z = -1,267$ ,  $p = 0,205$ ).

Уровни нормализованной экспрессии гена *XIAP* для группы беременных женщин с признаками инфицирования COVID-19 в I триместре беременности составили Ме (Q25/75) 338,24 (288,42/381,26) %, во II триместре беременности – 393,87 (365,31/415,10) %, в триместре беременности – 628,29 (546,44/732,16) % (рис. 6).

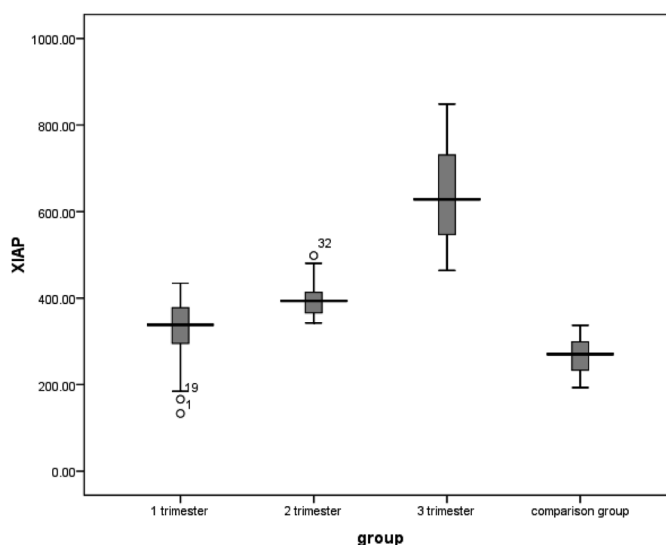


Рис. 6. Уровни нормализованной экспрессии гена *XIAP* в образцах плаценты родильниц основной группы (в зависимости от сроков инфицирования SARS-CoV-2) и группы сравнения

Использование непараметрического критерия Манна–Уитни позволило выявить статистически значимые различия по показателю «уровень нормализованной экспрессии гена *XIAP*» для групп 1–2 ( $Z = -3,246$ ,  $p = 0,001$ ), 1–3 ( $Z = -5,410$ ,  $p < 0,001$ ), 2–3 ( $Z = -5,302$ ,  $p < 0,001$ ) и 1–4 ( $Z = -3,367$ ,  $p = 0,001$ ).

Таким образом, на основании проведенных исследований установлено статистически значимое ( $p < 0,05$ ) достоверное повышение уровней нормализованной экспрессии генов апоптоза *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* в образцах плацент родильниц с COVID-19 независимо от сроков инфицирования по сравнению с контрольной группой (родильницы без признаков инфицирования COVID-19).

**Заключение.** Разработанный метод мультиплексной ПЦР в режиме реального времени

с обратной транскрипцией для одновременной (в одной пробирке) амплификации одного из таргетных (*CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP*) генов и выбранного референсного гена *GAPDH* может быть использован для определения уровней нормализованной экспрессии генов апоптоза в образцах биологического материала (парафинизированные образцы тканей плаценты) пациентов с COVID-19. Установлено, что уровни нормализованной экспрессии генов апоптоза *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* статистически значимо ( $p < 0,05$ ) достоверно выше в плаценте родильниц с COVID-19 по сравнению с родильницами без признаков инфицирования COVID-19 и статистически значимо различаются в зависимости от сроков инфицирования.

### Список цитированных источников

1. Effects of the COVID-19 pandemic on maternal and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis / B. Chmielewska, I. Barratt, R. Townsend [et al.] // *Lancet Glob Health*. – 2021. – Vol. 9. – P. 759–772.
2. Coronavirus disease 2019 and the placenta: a literature review / S.R. Gesaka, M.M. Obimbo, A. Wanyoro // *Placenta*. – 2022. – Vol. 126. – P. 209–223.
3. D'Arcy, M.S. Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy / M.S. D'Arcy // *Cell Biol. Int.* – 2019. – Vol. 43. – P. 582–592.
4. Burton, G.J. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction / G.J. Burton, E. Jauniaux // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol. 218. – P. 745–761.
5. Protein 53 (P53) Expressions and Apoptotic Index of Amniotic Membrane Cells in the Premature Rupture of Membranes / K.S. Negara, N.L.L.C. Prajawati, G.P. Surya [et al.] // *J. Med. Sci.* – 2018. – Vol. 6. – P. 1986–1992.
6. Inhibitors of apoptosis: Clinical implications in cancer / M.S. Mohamed, M.K. Bishr, F.M. Almutairi, A.G. Ali // *Apoptosis*. – 2017. – Vol. 22. – P. 1487–1509.
7. Полуян, О.С. Усовершенствование метода определения уровней нормализованной экспрессии генов белков теплового шока *Chlamydia trachomatis* для оценки риска диссеминации возбудителя из урогенитального тракта / О.С. Полуян // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. – 2017. – № 3. – С. 333–342.
8. Наследов, А.Д. SPSS 15: профессиональный статистический анализ данных / А.Д. Наследов. – СПб. : Питер, 2008. – 416 с.
9. Метод определения уровней экспрессии генов, обеспечивающих синтез коллагена и эластина, в пунктатах кожи пациентов с хроническими дерматозами, сопровождающимися атрофией кожи / С.А. Костюк, Т.В. Руденкова, И.Г. Шиманская [и др.] // *Дерматовенерология. Косметология*. – 2017. – № 2. – С. 179–187.

### STUDY OF NORMALIZED EXPRESSION LEVELS OF APOPTOSIS GENES IN THE PLACENTA OF WOMEN WITH COVID-19

Poluyan O.S., Kostiuk S.A.

*Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education», Minsk, Republic of Belarus*

Every year, about 15 million premature babies are born worldwide, and premature birth remains one of the main problems of obstetrics, which is of both social and medical nature due to the high risk of infant mortality and numerous health complications for both mother and child. In this article, the authors present data on determining the levels of normalized expression of apoptosis genes *CAS-3*, *CAS-8*, *XIAP* in placental tissue samples of women in labor with COVID-19 using a developed and clinically tested molecular genetic method. It is shown that the levels of normalized expression of apoptosis genes statistically significantly ( $p < 0.05$ ) differ depending on the timing of COVID-19 infection.

**Key words:** placenta; apoptosis genes; PCR; normalized expression level; COVID-19.