



Полнотранскриптомный анализ событий альтернативного сплайсинга РНК при выраженной и умеренной формах задержки роста плода

Трифонова Е.А.¹, Гавриленко М.М.¹, Бабовская А.А.¹, Ижойкина Е.В.²,
Зарубин А.А.¹, Сваровская М.Г.¹, Степанов В.А.¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр, Российская академия наук (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ), 634050, Российская Федерация, Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10

² Областной перинатальный центр имени И.Д. Евтушенко, 634063, Российская Федерация, Томск, ул. И. Черных, 96/1

Аннотация

Обоснование. Задержка роста плода (ЗРП) остается одной из ведущих причин перинатальной заболеваемости, а также серьезным фактором риска неблагоприятных исходов для здоровья ребенка в долгосрочной перспективе, включая повышенную вероятность неврологических, метаболических и сердечно-сосудистых заболеваний. Несмотря на высокий интерес к этой проблеме, молекулярные механизмы, лежащие в основе ЗРП, изучены недостаточно. Особенно мало данных о роли посттранскрипционной регуляции, в частности альтернативного сплайсинга (АС), в развитии этого заболевания, хотя именно этот процесс детерминирует разнообразие изоформ РНК и широту диапазона функциональных свойств клеток, определяя способности адаптироваться к патологическим воздействиям и степень подверженности к заболеваниям, включая акушерские патологии.

Цель исследования: характеристика профилей АС децидуальных клеток (ДК) плаценты, определяющих тяжесть течения ЗРП.

Материал и методы. Исследование выполнено на образцах плацентарной ткани пациенток с умеренной и выраженной формами ЗРП. Осужденован полнотранскриптомный анализ ДК плаценты, которые были получены с использованием технологии лазерной микродиссекции препаратов тонких окрашенных срезов. Полнотранскриптомное секвенирование рибонуклеиновой кислоты (РНК) выполнено с использованием SMARTer Stranded Total RNA-Seq kit v2 («Takara BIO»). Анализ событий АС проведен с помощью пакета «MAJIC» в операционной системе Linux. Для оценки вероятности дифференциальных событий применялись стандартные параметры MAJIC, включая порог значимости $p < 0,05$ и минимальное изменение индекса сплайсинга $|\Delta PSI| > 0,20$ между группами, что соответствует рекомендациям разработчиков алгоритма для выявления биологически значимых событий.

Результаты. В изученных выборках было обнаружено 13 688 событий АС в 4 002 генах, экспрессирующихся в ДК. Более 52% событий являются идентичными для обеих групп. Как среди аннотированных, так и *de novo* событий при выраженной форме ЗРП выявлено статистически значимое снижение частоты альтернативного первого экзона ($\chi^2 = 8,48; p = 0,004; \chi^2 = 6,15; p = 0,014$ соответственно). Альтернативно сплайсированные гены, специфичные для выраженной ЗРП, вовлечены в следующие биологические процессы: каталитическая активность, действующая на нуклеиновые кислоты ($pFDR = 0,020$); регуляция активности ГТФаз ($pFDR = 0,021$); регуляция активности нуклеозидтрифосфатазы ($pFDR = 0,021$) и активность пептидной N-ацетилтрансферазы ($pFDR = 0,028$). При сравнении групп с умеренной и выраженной ЗРП идентифицированы 84 дифференциально сплайсированных гена ($0,200 < \Delta PSI < 0,648; p < 0,05$), статистически значимо ассоциированных с такими биологическими и сигнальными путями, как различные виды reparации ДНК, сигнальный путь лиганд-управляемых ионных каналов, везикулярный транспорт к плазматической мембране, регуляция метаболизма мРНК, организация пероксидисом, организация лизосом, морфогенез, сигнальный путь SMAD, метаболизм серы и АТФ-зависимое ремоделирование хроматина.

Заключение. Полученные данные указывают на существование определенного набора молекулярных изменений на уровне АС, характерных для ЗРП независимо от степени ее тяжести. Паттерны АС, специфичные для выраженной ЗРП, ассоциированы с нарушением базовых регуляторных систем клетки. Результаты функциональной аннотации дифференциально сплайсированных генов свидетельствуют о влиянии АС на посттранскрипционный контроль, клеточную архитектуру и межклеточные сигнальные взаимодействия при выраженной ЗРП.

Ключевые слова:

задержка роста плода; децидуальные клетки; плацента; альтернативный сплайсинг; РНК; транскриптом.

Ресурсное обеспечение:	все эксперименты были проведены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск).
Финансирование:	исследование выполнено за счет средств государственного задания по теме ФНИ № 122020200083-8.
Соответствие принципам этики:	исследование проводилось при соблюдении всех этических норм и стандартов, представленных в Хельсинкской декларации. Проведение исследования одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (протокол № 13 от 15.11.2021 г.).
Для цитирования:	Трифонова Е.А., Гавриленко М.М., Бабовская А.А., Ижойкина Е.В., Зарубин А.А., Сваровская М.Г., Степанов В.А. Полнотранскриптомный анализ событий альтернативного сплайсинга РНК при выраженной и умеренной формах задержки роста плода. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2025;40(4):90–100. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-90-100

Whole transcriptome analysis of alternative ribonucleic acid splicing events in severe and moderate forms of fetal growth retardation

Trifonova E.A.¹, Gavrilenko M.M.¹, Babovskaya A.A.¹, Izhoykina E.V.²,
Zarubin A.A.¹, Swarovskaja M.G.¹, Stepanov V.A.¹

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 10 Ushayka River Embankment, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Regional Perinatal Center named after I.D. Evtushenko, 96/1 I. Chernykh Street, Tomsk, 634063, Russian Federation

Abstract

Background. Fetal growth retardation (FGR) remains one of the leading causes of perinatal morbidity and a major risk factor for long-term adverse health outcomes in children, including an increased likelihood of neurological, metabolic, and cardiovascular disorders. Despite extensive research interest, the molecular mechanisms underlying FGR are still insufficiently understood. In particular, little is known about the role of post-transcriptional regulation in the development of this condition. Alternative splicing is of special interest. It determines transcriptome diversity and expands the functional capacities of cells. Through this mechanism, cells gain the ability to adapt to pathological stimuli. At the same time, it influences their susceptibility to disease, including obstetric complications.

Aim: To characterize alternative splicing profiles in placental decidual cells (DCs) that determine the severity of fetal growth retardation. Material and Methods. The study was conducted on placental tissue samples from patients with moderate and severe forms of FGR. Whole-transcriptome analysis was performed on decidual cells isolated by laser microdissection from stained thin tissue sections. Whole-genome ribonucleic acid (RNA) sequencing was performed using the SMARTer Stranded Total RNA-Seq kit v2 (Takara BIO). Alternative splicing events were analyzed with the MAJIQ package under a Linux operating system.

Results. In the analyzed samples, 13,688 alternative splicing (AS) events were detected across 4,002 genes expressed in decidual cells. More than 52% of these events were identical between both groups. In severe FGR, both annotated and de novo events demonstrated a statistically significant decrease in the frequency of the alternative first exon ($\chi^2 = 8.48, p = 0.004$; $\chi^2 = 6.15, p = 0.014$, respectively). The alternatively spliced genes specific to severe FGR were involved in the following biological processes: catalytic activity acting on nucleic acids (pFDR = 0.020), regulation of GTPase activity (pFDR = 0.021), regulation of nucleoside triphosphatase activity (pFDR = 0.021), and peptide N-acetyltransferase activity (pFDR = 0.028). Comparison of the moderate and severe FGR groups identified 84 differentially spliced genes ($0.200 < \Delta\text{PSI} < 0.648$; $p < 0.05$). These genes were significantly associated with biological and signaling pathways including multiple types of DNA repair, the ligand-gated ion channel pathway, vesicular transport to the plasma membrane, regulation of mRNA metabolism, peroxisome organization, lysosome organization, morphogenesis, the SMAD signaling pathway, sulfur metabolism, and ATP-dependent chromatin remodeling.

Conclusion. The data indicate a specific set of AS-related molecular changes characteristic of FGR, regardless of its severity. AS patterns unique to severe FGR are associated with disruptions of fundamental cellular regulatory systems. Functional annotation of differentially spliced genes suggests that AS affects post-transcriptional control, cellular architecture, and intercellular signaling interactions in severe FGR.



Keywords:	fetal growth retardation; decidua cells; placenta; alternative splicing; RNA; transcriptome.
Resource support:	all experiments were carried out at the Shared Core Facilities for Research Equipment and Experimental Biological Material "Medical Genomics" (Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC, Tomsk).
Funding:	the study was supported by the State Assignment under project No. 122020200083-8.
Compliance with ethical standards:	the study was conducted in compliance with all ethical norms and standards outlined in the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Biomedical Ethics Committee of the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center (Protocol No. 13 dated November 15, 2021).
For citation:	Trifonova E.A., Gavrilko M.M., Babovskaya A.A., Izhokina E.V., Zarubin A.A., Swarovskaja M.G., Stepanov V.A. Whole transcriptome analysis of alternative ribonucleic acid splicing events in severe and moderate forms of fetal growth retardation. <i>Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2025;40(4):90–100. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-90-100

Введение

Адекватный рост плода и правильное функционирование плаценты являются ключевыми факторами, определяющими исход беременности, поскольку нарушение этих процессов – одна из основных причин преждевременных родов, мертворождения и младенческой смертности [1]. Кроме того, известно, что новорожденные с задержкой роста подвержены легочной гипертензии, переохлаждению, гипо- и гипергликемии, легочному кровотечению, а в период детского возраста могут страдать от когнитивных нарушений, неврологических и психических расстройств. Во взрослом возрасте данные пациенты склонны к ожирению, гипертонии, сахарному диабету 2-го типа, а также к неврологическим, сердечно-сосудистым, почечным, печеночным и респираторным заболеваниям. Таким образом, задержка роста плода (ЗРП) является одной из наиболее значимых акушерских патологий, оказывающих серьезное влияние как на исход беременности, так и на дальнейшее здоровье ребенка.

Диагностика ЗРП основывается на проведении ультразвуковой фетометрии и допплерометрического исследования: данное заболевание диагностируется при значениях предполагаемой массы плода (ПМП) и / или окружности живота (ОЖ) < 10-го процентиля в сочетании с патологическим кровотоком по данным ультразвуковой допплерографии либо значения ПМП и / или ОЖ < 3-го процентиля. Этиология ЗРП многофакторна и включает широкий спектр различных материнских, фетальных, плацентарных и / или генетических причин [2]. Материнские факторы риска включают паразитарные инфекции, плохое состояние здоровья матери (недоедание, сахарный диабет, гипертония, анемия, сердечные, печеночные и хронические заболевания почек), ожирение (ИМТ > 30), прием наркотических веществ, курение, возраст женщин старше 35 лет и многоплодная беременность. К факторам, влияющим на развитие плода, относятся также хромосомные аномалии, поскольку по меньшей мере у 50% плодов с трисомией 21-й, 13-й, 18-й хромосомы или с синдромом Шерешевского – Тернера наблюдается ЗРП. Кроме того, на развитие этой патологии могут влиять специфические плацентарные нарушения, такие как инфаркт, тромбоз сосудов плода, артериит децидуальной или спиральной артерии, хронический виллузит, гемангиома плаценты, а также аномалии пуповины. Тем не менее, считается, что среди всех причин ЗРП наиболее

распространенной является плацентарная недостаточность, обычно связанная с дефективной плацентацией и недостаточным ремоделированием спиральных артерий матери, что вызывает высокое сопротивление и низкий кровоток в системе маточно-плацентарного кровообращения [3]. В свою очередь, маточно-плацентарная недостаточность, приводящая к нарушению снабжения плода кислородом и питательными веществами, вызывает аномалии развития плода и создает условия для формирования ЗРП.

Показано, что развитие и функционирование плаценты зависят от сложных процессов, связанных с регуляцией экспрессии множества генов на протяжении всей беременности. Мутации, полиморфизмы, альтернативный сплайсинг, гипо- или гиперэкспрессия определенных плацентарных генов – все это может быть причиной маточно-плацентарной недостаточности, приводящей к аномальному росту и развитию плода [10]. Представленное исследование сфокусировано на изучении роли одного из этих факторов – альтернативного сплайсинга – в патогенезе ЗРП.

Альтернативный сплайсинг (AC) – важный процесс посттранскрипционной обработки мРНК, в результате которого образуются различные зрелые мРНК с разной структурой и функциями. В ходе этого процесса экзоны объединяются в различных комбинациях, а интроны удаляются. На данный момент выявлено семь основных типов AC, включая пропуск экзонов, альтернативный 5'-сайт сплайсинга, альтернативный 3'-сайт сплайсинга, взаимоисключающие экзоны, сохранение (включение) инtronов, альтернативный промотор и альтернативное полиаденилирование [4] (рис. 1).

Известно, что большинство генов образуют как минимум два варианта транскриптов, а альтернативно сплайсированные мРНК далее транслируются во множество вариантов белков, которые различаются по функциям и структуре [4]. Наряду с этим показано, что AC также может влиять на уровень экспрессии генов, не увеличивая разнообразие белков, за счет образования «непродуктивных» транскриптов, которые подвергаются быстрой деградации посредством нонсенс-опосредованного распада [5]. Нередко AC может приводить к образованию различных изоформ мРНК, кодирующих белки с модифицированными доменами и измененными функциональными свойствами, что отражается на сигнальных и мета-

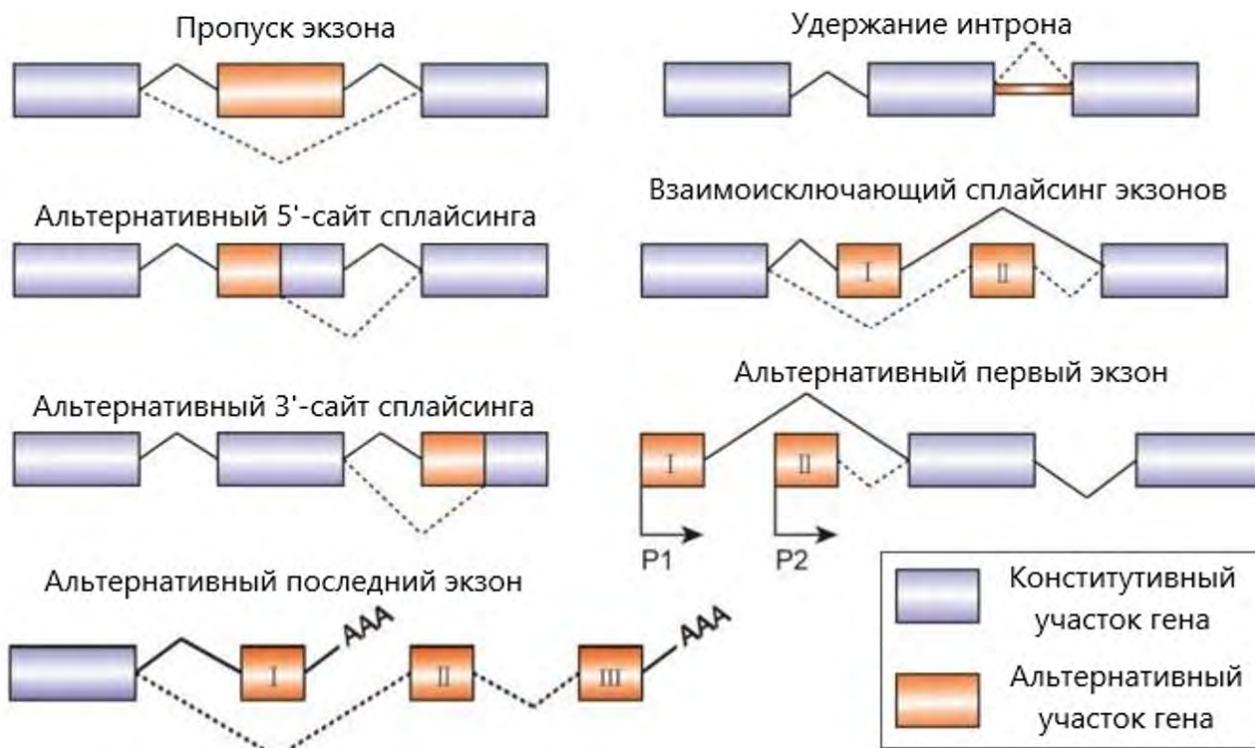


Рис. 1. Различные типы событий альтернативного спlicingа (с изменениями по Q. Liu и соавт. [4]).
 Fig. 1. Different types of alternative splicing events (adapted from Q. Liu et al. [4]).

болических путях клетки. В ряде случаев АС формирует транскрипты с преждевременными стоп-кодонами, которые подвергаются нонсенс-опосредованному распаду, что снижает общий уровень экспрессии гена и фактически эквивалентно частичной потере его функции. Таким образом, АС представляет собой один из ключевых механизмов посттранскрипционной регуляции, определяющей не только качественный состав транскриптома, но и уровень экспрессии генов на функциональном уровне. Данный этап процессинга РНК может изменять баланс экспрессии белковых изоформ, формировать нефункциональные или укороченные белки, а также полностью блокировать трансляцию, что позволяет рассматривать его как важное звено патогенеза различных заболеваний, включая и акушерскую патологию.

Цель исследования: характеристика профилей АС-дезидуальных клеток (ДК) плаценты, определяющих тяжесть течения ЗРП, а также выявление генов, потенци-

ально участвующих в патофизиологии этого заболевания.

Материал и методы

Для исследования были сформированы две выборки: 8 женщин с выраженной ЗРП; 5 женщин с умеренной ЗРП. Характеристика обследованных больных представлена в таблице 1.

Формирование выборки и исследование женщин проходили на базе Областного перинатального центра им. И.Д. Евтушенко (Томск). Диагноз О36.5 (недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери) выставлен акушером-гинекологом по МКБ-10 согласно критериям, указанным в клинических рекомендациях РОАГ 2022 г.

Критерии включения в группу больных: 1) принадлежность к русской этнической группе, территория рождения и проживания – Томская область; 2) возраст от 18 до 45

Таблица 1. Характеристика обследованных больных

Table 1. Characteristics of the examined patients

Показатель	вЗРП (<i>n</i> = 8)	уЗРП (<i>n</i> = 5)	<i>p</i>
Возраст матери, лет	30 (22,8; 36,3)	24 (23,5; 33,5)	0,622
Срок родоразрешения, нед.	38,3 (37,1; 39,3)	37,2 (37,1; 38,1)	0,284
Количество предыдущих беременностей	2 (1; 4)	3 (2; 5)	0,354
Количество родов	1 (0; 2)	2 (1; 3)	0,222
ИМТ до беременности, кг/м ²	22,7 (21,6; 25,8)	23,1 (19,8; 33,0)	0,808
Пол ребенка (мальчик : девочка)	4 : 4	2 : 3	0,833
Рост ребенка, см	47 (47; 48,5)	49 (47; 51)	0,171
Вес ребенка, г	2221 (1997; 2372)	2540 (2285; 2710)	0,030
Анемия, %	25	60	0,354
ССЗ, %	12,5	40	0,435
Эндокринные заболевания, %	25	20	0,943
Заболевания мочеполовой системы, %	25	40	0,943
Ожирение, %	12,5	20	0,833

лет; 3) одноплодная беременность; 4) наличие критериев ЗРП; 5) оперативное родоразрешение; 6) подписанное добровольное информированное согласие на исследование.

Критерии исключения из исследуемых групп: 1) отсутствие принадлежности к русской этнической группе, проживание и / или рождение вне Томской области; 2) возраст младше 18 и старше 45 лет; 3) наличие неблагоприятного акушерского анамнеза в предыдущие беременности; 4) наличие у женщины и / или плода хромосомных аномалий; 5) наличие тяжелых хронических заболеваний гинекологического и эндокринного профилей (синдром поликистозных яичников, сахарный диабет, эндометриоз); 6) аутоиммунные и инфекционные заболевания; 7) вредные привычки; 8) наличие профессиональных вредностей; 9) прием фетопротекторных лекарственных средств во время беременности; 10) отказ от участия в исследовании.

Исследование проводилось при соблюдении всех этических норм и стандартов, представленных в Хельсинкской декларации. Проведение настоящего исследования одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (протокол № 13 от 15.11.2021 г.).

Образцы для исследования были получены при биопсии плаценты в двух макроскопически неизмененных областях без признаков кровоизлияний в течение 10 мин после ее отделения, в соответствии с протоколом, описанным S. Robson и соавт. [6]. Биоптаты ткани размером около 5 × 5 мм и глубиной до 3 мм вырезали щипцами из материнской части плаценты вблизи пуповины, после чего их немедленно промывали физиологическим раствором и помещали в криопробирки для хранения в жидким азоте вплоть до начала следующего этапа эксперимента. Дополнительно образцы подвергались стандартному гистологическому исследованию для исключения воспалительных изменений плаценты и описания морфологических изменений, характерных для ЗРП (кровоизлияния, очаги фибринOIDНЫХ отложений, инфаркты ворсин и т. д.).

Методическая часть эксперимента, касающаяся получения ДК и секвенирования образцов РНК, от этапа криоконсервации плацентарной ткани до получения полнотранскриптомных данных с секвенатора, подробно описана ранее в статье А.А. Бабовской и соавт. [7].

Сравнительный статистический анализ клинических показателей проводили с помощью пакета программ SPSS 26.0 (IBM STATISTICS). Анализ на нормальность распределения количественных переменных осуществляли, используя критерий Шапиро – Уилка. Так как распределение всех количественных переменных отличалось от нормального, то для их описания использовали медиану и межквартильный интервал, Me (Q1; Q3). Категориальные переменные представлены абсолютными (n) или относительными (в %) частотами. Различия количественных переменных в двух независимых группах оценивали по критерию Манна – Уитни, категориальных – по χ^2 -критерию Пирсона с FDR-поправками Бенджамина – Хохберга на множественность сравнений. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез составлял 0,05.

Анализ событий альтернативного сплайсинга для данных, полученных в ходе полнотранскриптомного секвенирования, проведен в операционной системе Linux с

помощью пакета MAJIC (Modeling Alternative Junction Inclusion Quantification) [8], предназначенного для выявления локальных вариантов сплайсинга (LSV) и расчета изменений предельного индекса сплайсинга. Данный инструмент не использует классическую статистику в виде точных p-значений или FDR, а основан на вероятностной модели распределения индекса сплайсинга PSI (Percent Spliced In). На первом этапе построения графов сплайсинга наиболее важными заданными по умолчанию параметрами являются определение минимального количества образцов с идентифицированными событиями в каждой исследуемой группе (параметр «-min-experiments»), а также количество прочтений на событие для надежного подтверждения, что это неслучайная находка («-min-reads»). В настоящем исследовании были заданы параметр «-min-experiments», равный 4 и 3 для выраженной и умеренной групп с ЗРП соответственно, и параметр «-min-reads», равный 10. При анализе дифференциального сплайсинга в нашем исследовании использованы стандартные настройки программы MAJIC, включающие порог $|\Delta\text{PSI}| \geq 0,20$ и вероятность достоверного различия не менее 0,95. Такой подход позволяет корректно оценивать достоверность событий без необходимости дополнительной коррекции по FDR. Следует отметить, что относительно небольшой размер выборок, использованный в данной работе, ограничивает статистическую мощность анализа, поэтому полученные результаты требуют дальнейшей валидации на расширенных когортах.

Результаты и обсуждение

В изученных выборках было обнаружено 13 688 событий АС в 4002 генах, экспрессирующихся в ДК. На диаграмме Венна показано распределение событий АС между группами с выраженной и умеренной ЗРП (рис. 2). Большая часть событий (52%) является идентичной для обеих групп, что указывает на существование определенного набора молекулярных изменений, характерных для ЗРП независимо от степени ее тяжести. В то же время каждая из групп имеет и собственные уникальные гены и события, что, вероятно, отражает специфические особенности паттернов АС, связанные либо с компенсаторными механизмами при умеренной форме, либо с дополнительными нарушениями молекулярного профиля ДК при выраженной форме патологии.

На рисунке 3 представлено распределение обнаруженных бинарных событий согласно общепризнанным семи типам событий АС.

Среди аннотированных событий статистически значимые различия по частоте встречаемости разных типов событий сплайсинга выявлены для альтернативного первого экзона ($\chi^2 = 8,48; p = 0,004$) и пропуска экзона ($\chi^2 = 6,42; p = 0,012$). Статистически значимые отличия по частоте встречаемости разных типов *de novo* событий сплайсинга обнаружены для альтернативного первого экзона ($\chi^2 = 6,15; p = 0,014$) и удаления интрона ($\chi^2 = 14,12; p < 0,001$). Такое перераспределение может указывать, вероятно, на активацию более гибких механизмов регуляции транскрипции при умеренной форме ЗРП. Известно, что рост частоты альтернативного первого экзона отражает усиление тканеспецифической и контекст-зависимой регуляции профиля экспрессии генов, позволяющей клеткам плаценты варьировать старт транскрипции, состав сплайсированных изоформ РНК и тем самым адаптироваться к неблагоприятным условиям

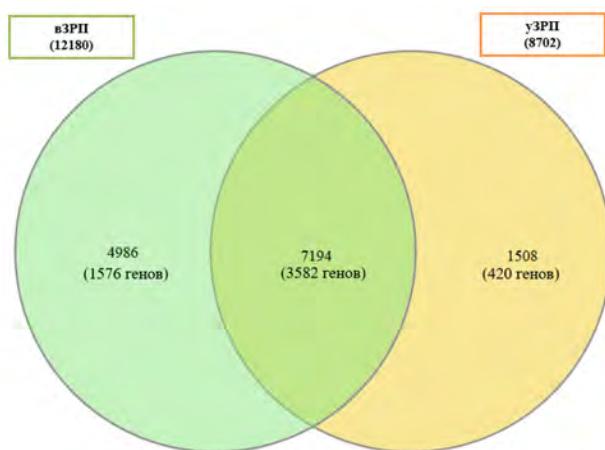


Рис. 2. Диаграмма Венна, демонстрирующая общность и специфичность событий альтернативного сплайсинга и генов при выраженной и умеренной формах задержки роста плода
Fig. 2. Venn diagram illustrating the overlap and specificity of alternative splicing events and genes in severe and moderate forms of fetal growth retardation

[9]. Можно предположить, что наблюдаемое уменьшение числа альтернативных первых экзонов при выраженной форме ЗРП, обуславливающее снижение активации новых промоторов генов и разнообразия транскриптов, свидетельствует об ограниченных адаптивных возможностях клеток и тканей плаценты в условиях гипоксии. Снижение доли удержания интрона, напротив, может свидетельствовать о более точной работе сплайкосомы и меньшем количестве нефункциональных РНК, которые могли бы нарушать клеточный метаболизм. Одновременно с этим снижение частоты пропуска экзонов при умеренной форме ЗРП может означать сохранение структурной целостности белков и предотвращение образования нефункциональных изоформ, что характерно для состояния, когда компенсаторные механизмы еще относительно эффективны. При выраженной форме ЗРП подобная регуляторная пластичность, вероятно, утрачивается, что отражается потерей регуляторной точности и более высокой частотой событий АС, влияющих на функциональные свойства белков. Тем не менее, данное предположение и полное понимание вышеописанных молекулярных механизмов требует дальнейших исследований.

Для детальной оценки функциональной значимости альтернативно сплайсированных генов, специфичных для каждой из изученных групп, с помощью ресурса WebGestalt (<https://www.webgestalt.org/>) нами проведен анализ обогащения категорий биологических процессов, в которые вовлечены данные гены.

Гены, специфичные для выраженной ЗРП, вовлечены в следующие биологические процессы: катализическая активность, действующая на нуклеиновые кислоты (GO:0140640, pFDR = 0,020); регуляция активности ГТФаз (GO:0030695, pFDR = 0,021); регуляция активности нуклеозидтрифосфатазы (GO:0060589, pFDR = 0,021) и активность пептидной N-ацетилтрансферазы (GO:0034212, pFDR = 0,028), которые задействованы в фундаментальных регуляторных механизмах клетки через белковые комплексы, связывающие нуклеиновые кислоты и играющие значимую роль в энергетическом метаболизме и передаче сигналов. Известно, что ГТФазы и нуклеозидтрифосфатазы напрямую участвуют в энергетическом цикле и контролируют процессинг нуклеиновых

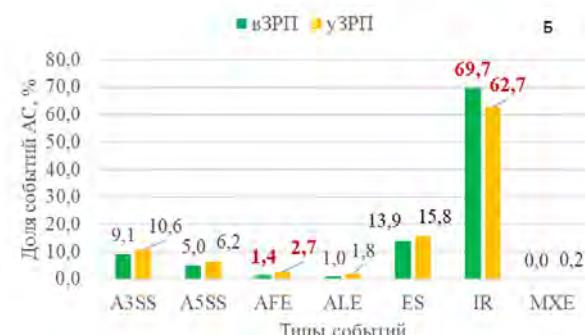
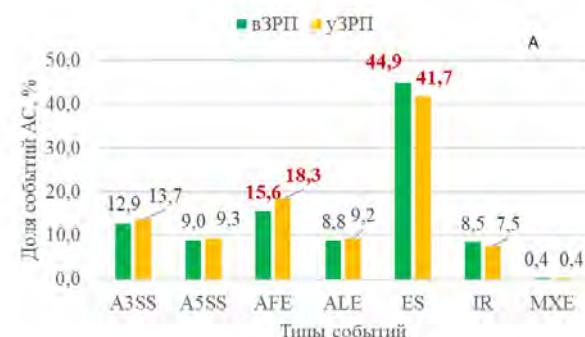


Рис. 3. Распределение бинарных аннотированных (А) и бинарных *de novo* (Б) событий альтернативного сплайсинга по типам в группах с выраженной и умеренной задержкой роста плода (A3SS – альтернативный 3'-сайт сплайсинга; A5SS – альтернативный 5'-сайт сплайсинга; MXE – взаимоисключающие экзоны; IR – удержание интрона; ES – пропуск экзона; AFE – альтернативный первый экзон; ALE – альтернативный последний экзон); красным отмечены статистически значимые различия

Fig. 3. Distribution of binary annotated (A) and binary *de novo* (B) alternative splicing events by type in groups with severe and moderate fetal growth restriction (A3SS – alternative 3' splice site; A5SS – alternative 5' splice site; MXE – mutually exclusive exons; IR – intron retention; ES – exon skipping; AFE – alternative first exon; ALE – alternative last exon). Statistically significant differences are highlighted in red

кислот, в то время как пептид N-ацетилтрансфераза может как регулироваться этими процессами, так и влиять на них, создавая сложные сигнальные сети. Кроме того, присутствие активности пептидной N-ацетилтрансферазы указывает на вовлечение в патогенез выраженной формы ЗРП посттрансляционных модификаций, которые могут менять стабильность и функциональность белков. Таким образом, взаимосвязь между выявленными нами биологическими процессами, обогащенными сплайсированными генами, специфичными для выраженной ЗРП, представляет собой глубоко интегрированную сеть клеточного контроля, имеющую основополагающее значение для жизни клетки [10]. В ответ на повреждение ДНК данная интеграция обеспечивает сложный, многоуровневый ответ: каталитическая активность нуклеаз на поврежденной ДНК инициирует сигнал, передаваемый цитоплазматическими ГТФазами, что приводит к глобальной остановке клеточного цикла. Этот ответ дополнительно корректируется N-концевым ацетилированием ключевых регуляторных белков, которое модулирует транскрипционную программу, необходимую для долгосрочного восстановления и выживания клеток.

Наряду с этим, альтернативно сплайсированные гены, специфичные для умеренной задержки роста плода сверхпредставлены в таких биологически путях, как внутриклеточный транспорт (GO:0046907, pFDR < 0,001); локализация белков в клетке (GO:0045184,

pFDR = 0,008); регуляция организации цитоскелета (GO:0051493, pFDR = 0,046); транспорт белков (GO:0015031, pFDR = 0,046). Максимальные значения коэффициента обогащения в данном случае наблюдаются для категории внутриклеточного транспорта, включающей локализацию и транспорт белков, что отражает, вероятно, ведущую роль в патогенезе умеренной формы ЗРП нарушения компенсаторных механизмов по перераспределению белковых комплексов и метаболитов внутри клетки. Известно, что ЗРП связана с нарушением внутриклеточного транспорта питательных веществ из материнской крови к развивающемуся плоду, который происходит в основном через клеточный слой синцитиотрофобласта – многоядерного эпителиального слоя, выстилающего ворсинки плаценты. Патогенетические факторы нарушения плацентарного транспорта при ЗРП включают в себя как снижение притока крови к плаценте, так и изменения в структуре и функции белков, транспортирующих питательные вещества, в клетках плаценты. Известно, что протеины, чувствительные к метаболизму питательных веществ, такие как mTOR, участвуют в регуляции развития плаценты и транспорта питательных веществ. Нарушения в этих сигнальных путях также могут нарушить нормальную работу транспортеров и способствовать развитию ЗРП [11]. Дополнительным значимым процессом в молекулярных механизмах данной патологии является регуляция организации цитоскелета, необходимая для поддержания формы клеток, их миграции и адекватного взаимодействия с внеклеточным матриксом. Совокупность этих изменений также может рассматриваться как проявление нарушений адаптивных процессов, значимых для поддержания физиологической беременности, при развитии умеренной формы ЗРП.

Далее среди 3 582 генов, для которых события АС зафиксированы в обеих обследованных группах, был проведен поиск дифференциально сплайсированных генов, ассоциированных с различиями в степени тяжести патологии. В 84 дифференциально сплайсированных генах нами идентифицированы 123 события АС, из которых наибольший удельный вес приходится на бинарные аннотированные события (44,7%). Среди бинарных событий наиболее часто встречающимися являются пропуск экзона (39,5%), альтернативный первый экзон (26,3%) и удержание интрона (11,8%), в то время как такой тип события, как взаимоисключающие экзоны, не обнаружен.

Аннотация этих 84 генов в базах данных GeneOntology (GO), KEGG, Reactome и Panther продемонстрировала их ассоциацию с такими биологическими и сигнальными путями, как различные виды репарации ДНК (GO:0006289; GO:0006302; R-HSA-5696398; R-HSA-5696399), сигнальный путь лиганд-управляемых ионных каналов (GO:1990806), везикулярный транспорт к плазматической мемbrane (GO:0098876), регуляция метаболизма мРНК (GO:1903311), организация пероксисом (GO:0007031), организация лизосом (hsa04142), морфогенез (GO:0010171), сигнальный путь SMAD (GO:0046332; R-HSA-2173795), метаболизм серы (hsa00920) и АТФ-зависимое ремоделирование хроматина (hsa03082) (табл. 2).

Известно, что ДНК человека постоянно подвергается воздействию эндогенных и экзогенных мутагенных стимулов, способных вызывать разнообразные повреждения. В качестве одного из значимых подобных эндогенных факторов в патогенезе ЗРП можно выделить не-

контролируемый окислительный стресс на клеточном и тканевом уровнях, развивающийся на фоне нарушения компенсаторных механизмов антиоксидантной системы [12]. Для защиты целостности генетического материала существует широкий спектр систем репарации ДНК, способных воздействовать на каждое конкретное повреждение. Несмотря на наличие нескольких путей репарации, активируется общая программа, известная как реакция на повреждения ДНК, которая способствует обнаружению повреждений, передаче сигнала и их восстановлению для поддержания целостности генома. Мутационные изменения в генах, участвующих в этих путях, и потеря их функции приводят к нарушению репарации ДНК и геномной нестабильности. Клеточный ответ на это проявляется либо неконтролируемой пролиферацией и нарушением регуляции клеточного цикла, что приводит к избыточному росту, либо апоптозом и старением, обусловливающими гипоплазию тканей. Эти противоположные аномалии роста могут клинически проявляться как онкологические заболевания или задержка роста, в том числе и плода [23]. Примечательно, что аннотация в базах данных «OMIM» и «DisGeNet» идентифицированных нами 84 дифференциально сплайсированных генов, ассоциированных с выраженной ЗРП, выявила значимую связь данного набора генов с карциномой почки ($p = 0,016$), раком желудка ($p = 0,020$) и тимомой ($p = 0,020$).

Показано, что полиморфизмы генов системы репарации ДНК за счет снижения функциональной активности репарационных белков и специфических протеинкиназ могут играть существенную роль в различных гестационных осложнениях вследствие несрабатывания механизма корректировки повреждений ДНК, формирования геномной нестабильности и запуска апоптоза в материнских и фетальных клетках [13]. Именно поэтому мутации и функциональные свойства генов, участвующих в сигнальных путях репарации ДНК, представляются перспективными в изучении их роли в развитии репродуктивных заболеваний, включая ЗРП.

Другим немаловажным биологическим процессом, обнаруженным в рамках данной работы и также связанным с апоптозом, является сигнальный путь SMAD – ключевой механизм передачи сигналов трансформирующего фактора роста β (TGF- β) и родственных ему цитокинов [14]. Этот путь играет весомую роль в регуляции пролиферации, дифференцировки, апоптоза,angiогенеза, формировании внеклеточного матрикса и поддержании тканевого гомеостаза. Сигнальный каскад SMAD включает три группы белков: R-SMAD (рецепторные SMAD); Co-SMAD (общий SMAD, SMAD4); I-SMAD (ингибиторные SMAD). Сигнальный путь начинается с активации рецепторов TGF- β , которые принадлежат к семейству серин-треонинкиназных рецепторов. Фосфорилированные R-SMAD связываются с SMAD4 и образуют активный транскрипционный комплекс, который транслоцируется в ядро. Здесь SMAD-комплекс взаимодействует с кофакторами транскрипции (FoxH1, p300, CBP, Snail, Sox9) и регулирует экспрессию генов, связанных с пролиферацией, дифференцировкой, фиброзом и апоптозом. На мышах показано, что сигнальный путь SMAD ассоциирован с эмбриональным развитием, участвуя в контроле дифференцировки мезодермы, нейроэндодермы и формировании осевых структур [26]. Этот сигнальный путь тесно связан с молекулярными механизмами морфогенеза – биологического процесса, который также был обогащен

Таблица 2. Наиболее значимые категории, обогащенные генами, дифференциально сплайсированными при различных формах задержки развития плода**Table 2.** The most significantly enriched categories with differentially spliced genes in various forms of fetal growth retardation

Категория	Описание	<i>p</i> *	Гены
Биологические процессы (GeneOntology)			
GO:0006289	Эксцизионная репарация нуклеотидов	0,004	PBRM1, RNF111, UVSSA
GO:1990806	Сигнальный путь лиганд-управляемых ионных каналов	0,006	CLN3, PLCB1
GO:1903311	Регуляция метаболизма мРНК	0,006	DCP1A, PUF60, RBPM, RC3H1, UPF3B
GO:0006302	Репарация двухцепочечных разрывов	0,007	EP400, PARP2, PBRM1, RECQL, SMARCAD1
GO:0007031	Организация пероксисом	0,009	DNM1L, MFF
GO:0010171	Морфогенез	0,016	SKI, STRA6
GO:0098876	Везикулярный транспорт	0,020	CLN3, PREPL, RAB11FIP3
Молекулярные функции (GeneOntology)			
GO:0046332	Связывание белков SMAD	0,041	RNF111, SKI
GO:0003729	Связывание мРНК	0,043	DCP1A, RBPM, RC3H1, UPF3B
Пути Reactome			
R-HSA-5696398	Эксцизионная репарация нуклеотидов	0,0006	COPS8, PARP2, RNF111, UVSSA
R-HSA-5696399	Глобальная геномная эксцизионная репарация нуклеотидов (GG-NER)	0,003	COPS8, PARP2, RNF111
R-HSA-2173795	Регляция транскрипционной активности SMAD2/3:SMAD4	0,005	RNF111, SKI
Пути KEGG			
hsa03082	АТФ-зависимое ремоделирование хроматина	0,012	EP400, MTA3, PBRM1
hsa04142	Организация лизосом	0,017	AP1G2, AP3S2, CLN3
hsa00920	Метabolизм серы	0,041	MPST

Примечание: **p* – вероятность, полученная при использовании теста гипергеометрического распределения, оценивающего насколько часто исследуемые гены встречаются в определенной категории по сравнению с тем, что ожидалось бы при распределении генов между всеми аннотированными категориями случайным образом. Данная метрика получена при помощи инструмента для анализа функционального обогащения «WebGestalt» (WEB-based Gene Set Analysis Toolkit).

клusterом дифференциально сплайсированных генов, идентифицированных в данной работе.

Клеточный морфогенез – процесс, посредством которого клетки приобретают свои характерные формы и структуры, необходим для адекватного роста и развития плода [15]. Нормальное развитие плаценты зависит от сложных процессов клеточного морфогенеза, включая морфогенез ветвления ворсинок плода и ремоделирование кровеносных сосудов матери. Дефекты в этих процессах могут нарушить функцию плаценты, что приводит к недостаточному снабжению плода питательными веществами и кислородом, которое имеет решающее значение для формирования таких органов, как мозг, сердце, легкие и скелет. Любые нарушения в этом процессе могут привести к структурным аномалиям, которые ухудшают функции органов и способствуют развитию ЗРП.

Известно, что среди патогенетических факторов ЗРП ведущим является плацентарная недостаточность, развитие которой может быть связано с изменением физико-химических свойств плазматических мембран плаценты. Значительное число процессов, контролируемых мембранами, убедительно свидетельствует о возможности нарушения клеточного метаболизма и чувствительности клетки к внешним воздействиям в результате изменения структуры и свойств мембран. Нарушение функциональной активности плазматических мембран плаценты может ухудшать не только метаболизм в самом органе, но и в целом фетоплацентарный обмен, снабжение плода необходимыми для его роста и развития пластическими веществами [16]. В связи с этим нарушения в таких биологических процессах, как сигнальный путь лиганд-управляемых ионных каналов и везикулярный транспорт к плазматической мемbrane, могут выступать в качестве ведущих патогенетических звеньев ЗРП. Дополнительным подтверждением этого предположения являются результаты недавних исследований плацентар-

ных экзосом, свидетельствующие об их потенциальной роли в этиологии и развитии ЗРП [17]. Кроме того, было показано, что секреция плацентарных экзосом изменяется в ответ на вариабельность внеклеточных сигналов, таких как высокая концентрация глюкозы или низкое напряжение кислорода (например, гипоксия), являющихся эндогенными стимулами запуска системы репарации ДНК в плаценте.

В настоящей работе установлена связь с выраженной ЗРП и других компонентов системы везикулярного транспорта клетки, а именно лизосом и пероксисом, являющихся мембранными органеллами, которые участвуют в клеточном метаболизме, деградации биомолекул и защищают клетки от токсических веществ. Хотя обе структуры участвуют в катаболических процессах, они имеют разное происхождение, ферментный состав и функциональную специализацию. Лизосомы представляют собой пузырьки, окруженные мембраной, которые содержат гидролитические ферменты, способные расщеплять белки, липиды, углеводы и нуклеиновые кислоты [18]. Основная роль лизосом заключается в аутофагии – процессе удаления поврежденных органелл и белков, а также в гетерофагии, когда они переваривают захваченные внеклеточные частицы. В процессе аутофагии лизосомы помогают удалять поврежденные органеллы, предотвращая окислительный стресс и апоптоз в условиях гипоксии, характерной для ранних этапов плацентации. Кроме того, лизосомы обеспечивают иммунную защиту плаценты, участвуя в антигенной презентации и распознавании патогенов. В одном исследовании также продемонстрирован повышенный уровень аутофагии при ЗРП, презклампсии и их сочетании [19].

Пероксисомы – это также одномерные органеллы, но в отличие от лизосом, они не содержат гидролазы, а включают окислительные ферменты, такие как каталаза и уратоксидаза [20]. Эти ферменты разлагают

токсичные метаболиты, включая перекись водорода, которая образуется в процессе β -окисления жирных кислот и детоксикации ксенобиотиков. Пероксиды участвуют в синтезе плазмалогенов – фосфолипидов, необходимых для функционирования нервной системы.

Необходимо отметить, что лизосомы, пероксиды и плацентарные везикулы могут быть взаимосвязаны через систему клеточных мембран в первую очередь через везикулярный транспорт и мембранные контактные площадки, что обеспечивает обмен веществами и функциональное взаимодействие. Лизосомы получают груз из транспортных везикул и могут взаимодействовать с пероксидами в местах контакта с мембраной, способствуя метаболическим процессам, таким, например, как транспорт холестерина. Эти клеточные органеллы также связаны с мембраной плаценты посредством универсального процесса везикулярного транспорта и эзоцитоза, который включает слияние везикул с клеточной мембраной для секреции молекул или доставки компонентов. Можно предположить, что при развитии ЗРП вышеописанные молекулярные механизмы могут быть нарушены на одном из этапов (рис. 4).

В целях детальной функциональной аннотации этих 84 генов проведен анализ реконструированной с использованием программы «STRING» белок-белковой сети (рис. 5), включающей три кластера по четыре продукта данных генов и пять попарных взаимодействий. Центральное место в построенной сети с максимальным числом и силой взаимодействий (node_degree ≥ 3, score ≥ 0,400) занимают следующие три гена: AP1G2, PBRM1, SYNRG.

Белок, кодируемый геном AP1G2, является белком гамма-адаптина и относится к семейству крупных субъединиц адапторных комплексов. Считается, что этот белок вместе с комплексом функционирует на некотором этапе транспортировки лиганд-рецепторных комплексов от плазматической мембраны или от транс-сети Гольджи к лизосомам. Ген SYNRG кодирует белок, который взаимодействует с гамма-субъединицей комплекса AP1 кальций-адаптор. Комплекс AP1 расположен в транс-сети

Гольджи и связывает специфические белки с пузырьками, покрытыми кальцином. Оба эти гена задействованы в эндоцитозе. Ген PBRM1 кодирует субъединицу АТФ-зависимых комплексов, ремоделирующих хроматин. Кодируемый белок был идентифицирован как неотъемлемый компонент комплексов, необходимых для лиганд- зависимой активации транскрипции ядерными гормональными рецепторами.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что наблюдаемые различия между выраженной и умеренной формами ЗРП могут отражать специфику молекулярных и клеточных механизмов, характеризующих каждую из этих клинических форм. Гены, для которых обнаружены паттерны АС, наблюдаемые при выраженной форме ЗРП, связаны с изменениями в регуляции транскрипции, активности ГТФаз, репарации ДНК и посттрансляционных модификаций белков, что позволяет рассматривать нарушение базовых регуляторных систем клетки как значимый патогенетический фактор данной клинической формы. В то же время при анализе альтернативно сплайсированных генов, специфичных для умеренной формы ЗРП, выявлены изменения, связанные с внутриклеточным транспортом, организацией цитоскелета и локализацией белков, что указывает на возможные нарушения адаптивных и компенсаторных процессов в плацентарной ткани, значимых для поддержания физиологической беременности.

Анализ дифференциально сплайсированных генов показал, что 84 идентифицированных гена вовлечены в широкий спектр биологических путей, включая репарацию ДНК, мембранный транспорт, регуляцию метаболизма мРНК, сигнальные пути ионных каналов и SMAD, а также процессы морфогенеза, организацию пероксидов и лизосом, метаболизм серы и ремоделирование хроматина. Эти результаты указывают на то, что АС может влиять как на посттранскрипционный контроль, так и на клеточную архитектуру и межклеточные сигнальные взаимодействия.

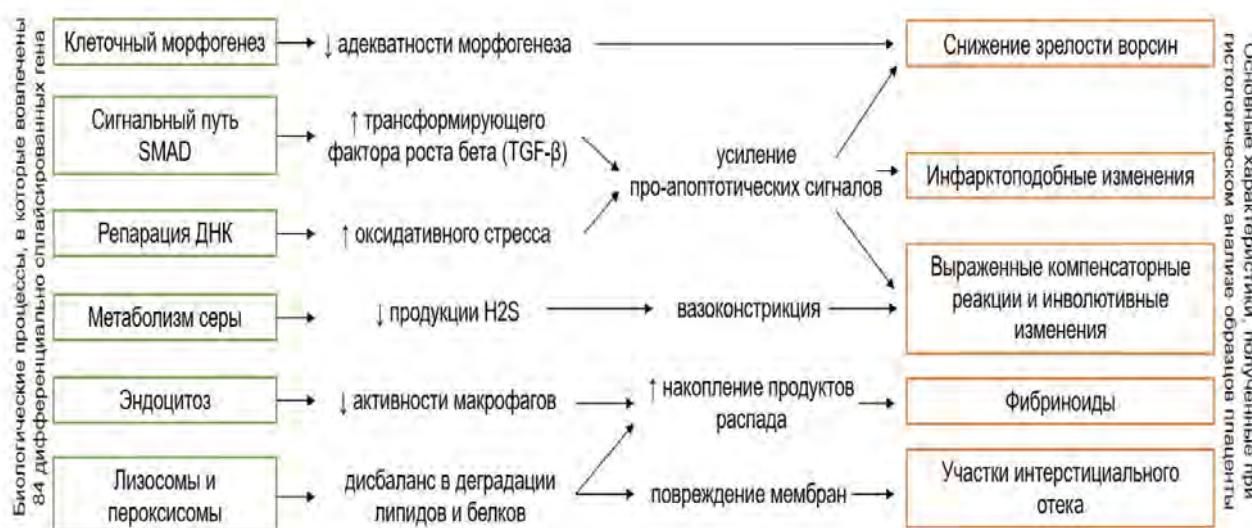


Рис. 4. Молекулярные механизмы задержки развития плода, описанные на основании результатов биоинформатического анализа полногеномных профилей альтернативного сплайсинга при физиологической беременности и задержке роста плода
Fig. 4. Molecular mechanisms of fetal growth retardation described based on bioinformatic analysis of genome-wide alternative splicing profiles in physiological pregnancy and FGR

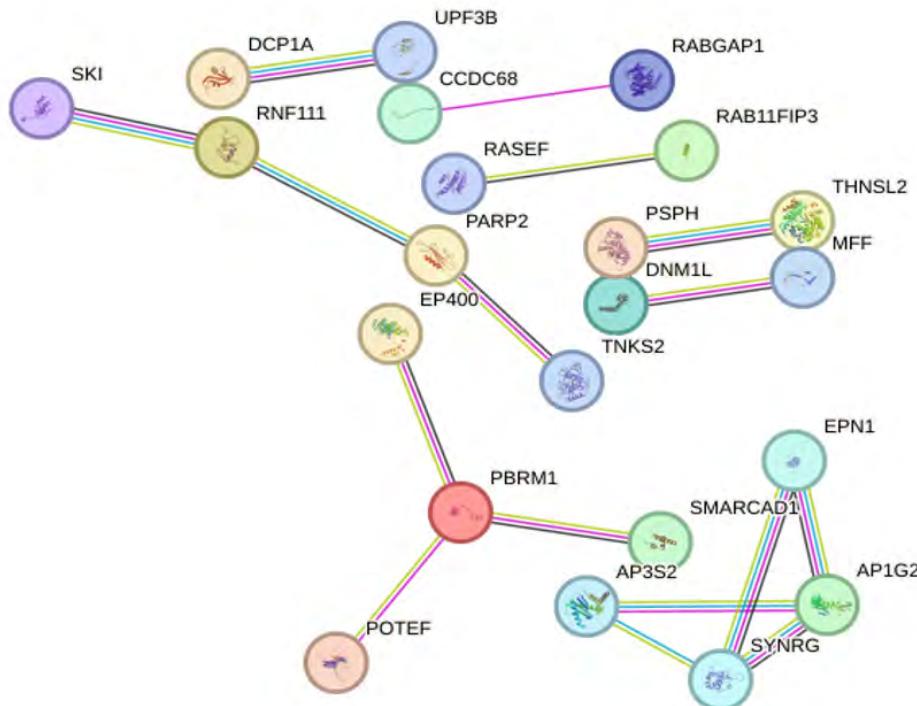


Рис. 5. Сеть белок-белковых взаимодействий продуктов дифференциально сплайсированных генов, экспрессирующихся в децидуальных клетках при выраженной и умеренной задержке роста плода

Fig. 5. Protein-protein interaction network of differentially spliced gene products expressed in decidual cells in severe and moderate fetal growth retardation

В совокупности такие молекулярные изменения способны напрямую отражаться на морфологии плаценты. Выявленные изменения в путях, связанных с reparацией ДНК и ремоделированием хроматина, могут приводить к накоплению повреждений и нарушению пролиферации трофобласта, что ослабляет процессы обновления и дифференцировки клеток ворсин. Патологическая регуляция метаболизма мРНК и активности сплайсинга нарушают синтез ключевых белков, необходимых для поддержания клеточного гомеостаза, что способствует развитию функциональной нестабильности плаценты. Нарушения в сигнальных путях SMAD и ионных каналов влияют на клеточный морфогенез и межклеточные взаимодействия, вызывая дезорганизацию ворсинчатого дерева и снижая зрелость ворсин. Дополнительно изменения в метаболизме серы, организации пероксидом и лизосом приводят к нарушению детоксикации и энергетического обмена, что может усиливать интерстициальный отек и фибринOIDные отложения. В совокупности такие молекулярные дефекты формируют морфологическую картину плаценты при выраженной ЗРП – с зонами ишемии, застоем крови и инфарктоподобными изменениями, тогда как при умеренной форме вовлечение данных механизмов носит ограниченный характер и проявляется лишь умеренными компенсаторными реакциями.

Таким образом, основываясь на полученных данных, можно предположить, что молекулярный патогенез выраженной ЗРП – это сложная сеть взаимосвязанных нарушений на молекулярно-клеточном уровне: от повреждения ДНК и эпигенетических изменений до сбоев в сигнальных путях, метаболизме и везикулярном транспорте – процессов, которые вносят свой вклад в развитие плацентарной недостаточности, что подтверждается данными гистологических исследований. Понимание этих

механизмов открывает новые возможности для ранней диагностики и разработки таргетной терапии этого тяжелого осложнения беременности.

Литература / References

1. Bendix I., Miller S.L., Winterhager E. Causes and consequences of intrauterine growth restriction. *Frontiers in endocrinology*. 2020;11:205. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00205>
2. Westby A., Miller L. Fetal growth restriction before and after birth. *American family physician*. 2021;104(5):486–492.
3. Albrecht E.D., Pepe G.J. Regulation of uterine spiral artery remodeling: a review. *Reproductive Sciences*. 2020;27(10):1932–1942. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00212-8>
4. Liu Q., Fang L., Wu C. Alternative splicing and isoforms: from mechanisms to diseases. *Genes*. 2022;13(3):401. <https://doi.org/10.3390/genes13030401>
5. Fair B., Buen Abad Najar C.F., Zhao J., Lozano S., Reilly A., Mossian G. et al. Global impact of unproductive splicing on human gene expression. *Nature genetics*. 2024;56(9):1851–1861. <https://doi.org/10.1038/s41588-024-01872-x>
6. Robson S.C., Simpson H., Ball E., Lyall F., Bulmer J.N. Punch biopsy of the human placental bed. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;187(5):1349–1355. <https://doi.org/10.1067/mob.2002.126866>
7. Бабовская А.А., Трифонова Е.А., Сереброва В.Н., Сваровская М.Г., Зарубин А.А., Жильякова О.В. и др. Протокол полнотранскриптомного анализа децидуальных клеток плаценты. *Молекулярная биология*. 2022;56(2):325–333. <https://doi.org/10.31857/S0026898422020045>
8. Vaquero-Garcia J., Barrera A., Gazzara M.R., Gonzalez-Vallinas J., Lahens N.F., Hogenesch J.B. et al. A new view of transcriptome complexity and regulation through the lens of local splicing variations. *eLife*. 2016;5:e11752. <https://doi.org/10.7554/eLife.11752>
9. Kitagawa N., Washio T., Kosugi S., Yamashita T., Higashi K., Yanagawa H. et al. Computational analysis suggests that alternative first exons are involved in tissue-specific transcription in rice (*Oryza sativa*). *Bioinformatics*. 2005;21(9):1758–1763. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti253>
10. Ridley A.J., Rho G.T. Pase signalling in cell migration. *Current opinion in cell biology*. 2015;36:103–112. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.08.005>
11. Hart B., Morgan E., Alejandro E.U. Nutrient sensor signalling pathways and cellular stress in fetal growth restriction. *Journal of molecular*



- endocrinology.* 2019;62(2):R155–R165. <https://doi.org/10.1530/jme-0059>
12. Fujimaki A., Watanabe K., Mori T., Kimura C., Shinohara K., Wakatsuki A. Placental oxidative DNA damage and its repair in preeclamptic women with fetal growth restriction. *Placenta.* 2011;32(5):367–372. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2011.02.004>
13. Доброхотова Ю.Э., Луценко Н.Н., Зимина О.А. Невынашивание беременности. Роль генов репарации ДНК. *Акушерство и гинекология.* 2015;(9):5–13. <https://journals.eco-vector.com/0300-9092/article/view/247467>
- Dobrokhotova Y.E., Lutsenko N.N., Zimina O.A. Miscarriage: Role of DNA repair genes. *Obstetrics and gynecology.* 2015;(9):5–13. URL: [\(11.11.2025\).](https://journals.eco-vector.com/0300-9092/article/view/247467)
14. Aashaq S., Batool A., Mir S.A., Beigh M.A., Andrabi K.I., Shah Z.A. TGF- β Signaling: A Recap of SMAD-independent and SMAD-dependent Pathways. *Journal of cellular physiology.* 2022;237(1):59–85. <https://doi.org/10.1002/jcp.30529>
15. Mihu C.M., Suşman S., Rus Ciucă D., Mihu D., Costin N. Aspects of placental morphogenesis and angiogenesis. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2009;50(4):549–557. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19942949/> (11.11.2025).
16. Погорелова Т.Н., Крукиер И.И., Гунько В.О., Никашина А.А., Палиева Н.В. Роль нарушения белково-липидного состава плацматических мембран плаценты и модификации мембранотранс-
- порных процессов в развитии осложненной беременности. *Проблемы репродукции.* 2017;23(5):42–47. <https://doi.org/10.17116/repro201723542-47>
- Pogorelova T.N., Kruckier I.I., Gun'ko V.O., Nikashina A.A., Palieva N.V. The influence of violations of protein-lipid composition of plasma membranes of the placenta and modifications of membrane transport processes on the development of complicated pregnancy. *Russian Journal of Human Reproduction.* 2017;23(5):42 47. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/repro201723542-47>
17. Paul N., Maiti K., Sultana Z., Fisher J.J., Zhang H., Cole N. et al. Human placenta releases extracellular vesicles carrying corticotrophin releasing hormone mRNA into the maternal blood. *Placenta.* 2024;146:71–78. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2024.01.004>
18. Lawrence R.E., Zoncu R. The lysosome as a cellular centre for signalling, metabolism and quality control. *Nature cell biology.* 2019;21(2):133–142. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0244-7>
19. Hung T.H., Chen S.F., Lo L.M., Li M.J., Yeh Y.L., Hsieh T.S.T.A. Increased autophagy in placentas of intrauterine growth-restricted pregnancies. *Plos one.* 2012;7(7):e40957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040957>
20. Wanders R.J., Baes M., Ribeiro D., Ferdinandusse S., Waterham H.R. The physiological functions of human peroxisomes. *Physiological reviews.* 2023;103(1):957–1024. <https://doi.org/10.1152/physrev.00051.2021>

Информация о вкладе авторов

Трифонова Е.А. – концепция и дизайн исследования, анализ данных, подготовка текста рукописи; Гавриленко М.М. – формирование биобанка, выделение РНК, синтез библиотек, биоинформационный анализ данных, подготовка текста рукописи; Бабовская А.А. – синтез библиотек, секвенирование РНК, оформление рукописи; Ижойкина Е.В. – сбор материала для исследования; Зарубин А.А. – биоинформационный анализ данных; Сваровская М.Г. – получение децидуальных клеток; Степанов В.А. – концепция и дизайн исследования, редакционная и научная правка текста рукописи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Трифонова Екатерина Александровна, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория эволюционной генетики, НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1311-7403>.

Гавриленко Мария Михайловна, младший научный сотрудник, лаборатория геномной идентификации и лаборатория эволюционной генетики, НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: maria.gavrilenko@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9526-8581>.

Бабовская Анастасия Александровна, канд. мед. наук, младший научный сотрудник, лаборатория геномной идентификации и лаборатория эволюционной генетики, НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1193-5579>.

Ижойкина Екатерина Владимировна, врач-акушер-гинеколог, Областной перинатальный центр им. И.Д. Евтушенко, Томск, Россия, e-mail: katushkabig@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0007-9273-6371>.

Зарубин Алексей Андреевич, канд. мед. наук, младший научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: aleksei.zarubin@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6568-6339>.

Сваровская Мария Геннадьевна, канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория эволюционной генетики, НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: maria.swarovskaja@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5020-4971>.

Степанов Вадим Анатольевич, д-р биол. наук, академик РАН, директор Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: genetics@tnimc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5166-331X>.

Поступила 03.10.2025;
рецензия получена 20.10.2025;
принята к публикации 13.11.2025.

портных процессов в развитии осложненной беременности. *Проблемы репродукции.* 2017;23(5):42–47. <https://doi.org/10.17116/repro201723542-47>

Pogorelova T.N., Kruckier I.I., Gun'ko V.O., Nikashina A.A., Palieva N.V. The influence of violations of protein-lipid composition of plasma membranes of the placenta and modifications of membrane transport processes on the development of complicated pregnancy. *Russian Journal of Human Reproduction.* 2017;23(5):42 47. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/repro201723542-47>

17. Paul N., Maiti K., Sultana Z., Fisher J.J., Zhang H., Cole N. et al. Human placenta releases extracellular vesicles carrying corticotrophin releasing hormone mRNA into the maternal blood. *Placenta.* 2024;146:71–78. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2024.01.004>

18. Lawrence R.E., Zoncu R. The lysosome as a cellular centre for signalling, metabolism and quality control. *Nature cell biology.* 2019;21(2):133–142. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0244-7>

19. Hung T.H., Chen S.F., Lo L.M., Li M.J., Yeh Y.L., Hsieh T.S.T.A. Increased autophagy in placentas of intrauterine growth-restricted pregnancies. *Plos one.* 2012;7(7):e40957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040957>

20. Wanders R.J., Baes M., Ribeiro D., Ferdinandusse S., Waterham H.R. The physiological functions of human peroxisomes. *Physiological reviews.* 2023;103(1):957–1024. <https://doi.org/10.1152/physrev.00051.2021>

Information on author contributions

Trifonova E.A. – study concept and design, data analysis, manuscript preparation; Gavrilenko M.M. – biobank formation, RNA extraction, library synthesis, bioinformatic data analysis, manuscript preparation; Babovskaya A.A. – library synthesis, RNA sequencing, manuscript formatting; Izhoykina E.V. – study material collection; Zarubin A.A. – bioinformatic data analysis; Svarovskaya M.G. – obtaining decidua cells; Stepanov V.A. – study concept and design, editorial and scientific revision of the manuscript.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Information about the authors

Ekaterina A. Trifonova, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Laboratory of Evolutionary Genetics., Research Institute of Medical Genetics of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1311-7403>.

Maria M. Gavrilenko, Junior Research Scientist, Laboratory of Genomic Identification and the Laboratory of Evolutionary Genetics, Research Institute of Medical Genetics of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: maria.gavrilenko@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9526-8581>.

Anastasia A. Babovskaya, Cand. Sci. (Med.), Junior Research Scientist, Laboratory of Genomic Identification and the Laboratory of Evolutionary Genetics, Research Institute of Medical Genetics of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1193-5579>.

Ekaterina V. Izhoykina, Obstetrician-Gynecologist, Regional Perinatal Center named after I.D. Evtushenko, Tomsk, Russia, e-mail: katushkabig@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0007-9273-6371>.

Alexey A. Zarubin, Cand. Sci. (Med.), Junior Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: aleksei.zarubin@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6568-6339>.

Maria G. Swarovskaja, Cand. Sci. (Biol.), Research Scientist, Laboratory of Evolutionary Genetics, Research Institute of Medical Genetics of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia, e-mail: maria.swarovskaja@medgenetics.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5020-4971>.

Vadim A. Stepanov, Dr. Sci. (Biol.), Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, Russia, e-mail: genetics@tnimc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5166-331X>.

Received 03.10.2025;
review received 20.10.2025;
accepted for publication 13.11.2025.