

На правах рукописи



БАБОВСКАЯ АНАСТАСИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ПОПУЛЯЦИОННАЯ ТРАНСКРИПТОМИКА ПРЕЭКЛАМПСИИ: РОЛЬ
ЕСТЕСТВЕННОГО ОТБОРА В ФОРМИРОВАНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ
АРХИТЕКТУРЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

1.5.7 – Генетика

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», в Научно–исследовательском институте медицинской генетики, г. Томск.

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук

Трифорова Екатерина Александровна

Официальные оппоненты:

Акуленко Лариса Вениаминовна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова», кафедра медицинской генетики, заведующая (г. Москва)

Шахтшнейдер Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Научно–исследовательский институт терапии и профилактической медицины, лаборатория молекулярно–генетических исследований терапевтических заболеваний, ведущий научный сотрудник (г. Новосибирск)

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно–исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» (г. Санкт–Петербург)

Защита состоится «___» _____ 2023 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.215.03 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу г. Томск, Московский тр., 3, НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <https://www.tnimc.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

 Хитринская И.Ю.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Понимание закономерностей вариабельности экспрессии генов, как на межиндивидуальном, так и на межпопуляционном уровнях, позволит получить важную информацию о молекулярной основе фенотипического разнообразия, необходимую для интерпретации моделей изменения транскрипционной активности генов при патологии [Price P. et al., 2022; Keys K. et al., 2020; Beretta L. et al., 2020]. В данном контексте особый интерес представляют гены, экспрессия которых значимо различается между популяциями, так как они могут рассматриваться в качестве наиболее вероятных локусов подверженности к болезням, распространенность которых варьирует в зависимости от популяционной принадлежности индивидов или условий проживания [Price P. et al., 2022; Kelly D. et al., 2022; Beretta L. et al., 2020; Hill M. et al., 2021]. Многообещающим подходом для объяснения причин межпопуляционной транскриптомной вариабельности является анализ эволюционных факторов, способствующий выявлению направленных сил, действующих на отдельные гены. Одним из самых интересных объектов исследования с точки зрения поиска вариабельности экспрессии генов, связанной с не-нейтральными силами эволюции, является плацента, считающаяся самым «молодым» органом в истории позвоночных. Стоит отметить, что изучение молекулярных процессов, происходящих в плацентарной ткани, рассматривается на сегодняшний день как наиболее перспективное направление исследований для раскрытия механизмов осложненного течения беременности, и в частности такого тяжелого заболевания как преэклампсия [Zhang B. et al., 2022; Gong S. et al., 2021; Glotov A. et al., 2019].

Преэклампсия (ПЭ) – это многофакторное полиорганное заболевание, поражающее около 5 % беременных женщин, которое является основной причиной материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [Miller D. et al., 2023]. Проблема профилактики и ранней диагностики преэклампсии продолжает оставаться одной из ведущих в акушерстве, поскольку частота этого осложнения беременности не снижается, несмотря на достижения в медицине и физиологии. Интересно, что результаты некоторых работ указывают на существование расовых и этнических различий частоты развития преэклампсии. Так, минимальная частота данной патологии отмечается у представителей монголоидной расы: китайцев – 1,44%, японцев – 1,84% и среди латиноамериканских женщин – 1,6%, в то время как европеоиды и негроиды имеют более высокие значения данного показателя: 2,8% и 4,0% соответственно [Goffinet F. et al., 2010; Ghosh G. et al., 2014; Wolf M. et al., 2004]. Определенный вклад в вышеописанные различия может вносить межпопуляционная вариабельность уровней экспрессии генов и протеинов, играющих ключевую роль в молекулярных механизмах развития этого патологического состояния. Например, имеются данные о существенном различии средних уровней таких прогностических ангиогенных и антиангиогенных факторов ПЭ, как PIGF, sEng и sVEGFR1 у афроамериканцев и европеоидов, проживающих на территории США [Whitney A. et al., 2017]. Примечательно, что результаты ряда отечественных и зарубежных работ свидетельствуют об ассоциации полиморфных маркеров генов, кодирующих данные факторы, с ПЭ [Zhang L. et al., 2020; Акуленко Л.В. и др., 2020; Еремина Е.Р. и др.,

1999], что подчеркивает актуальность изучения генетических аспектов развития данной патологии. Также, следует отметить значительную роль в формировании межпопуляционных различий экспрессии генов вариабельности частот аллелей регуляторных однонуклеотидных вариантов генов–кандидатов ПЭ, обусловленной адаптивной эволюцией генофондов данных популяций [Сереброва В.Н. и др., 2020].

Согласно современным представлениям, основная причина развития ПЭ связана с нарушением начальных этапов формирования плаценты. Предполагаемым пусковым механизмом является неполноценная инвазия трофобласта в спиральные артерии эндометрия. Данные события в децидуальной ткани включают целый каскад сигнальных путей, приводящий в итоге к развитию системного воспалительного ответа и эндотелиальной дисфункции [Савельева Г. и др., 2000; Roberts J. et al., 2013; Leeman L. et al., 2016]. Известно, что децидуальная ткань выступает в качестве пограничной зоны между клетками матери и плода и играет значительную роль в развитии физиологической беременности (ФБ). Показано, что неиммунные децидуальные стромальные клетки, которые составляют более 75% от популяции клеток децидуальной ткани, обладают потенциалом для иммунологической защиты плода, в том числе и посредством регуляции функций иммунных клеток децидуальной ткани [Guo C. et al., 2021; Soncin F. et al., 2018]. Кроме того имеются данные, свидетельствующие о том, что аномалии процессов децидуализации могут приводить к нарушению эндоваскулярной инвазии трофобласта и неполному ремоделированию спиральных артерий матки, что в свою очередь ведет к снижению перфузионной и питательной активности ткани [Kirk P. et al., 2017; Conrad K. et al., 2017]. В связи с чем, децидуальные клетки (ДК), являющиеся неотъемлемым звеном благополучного течения беременности, были выбраны в качестве объекта исследования. Стоит подчеркнуть, что изменения в транскриптомном профиле децидуальных клеток при преэклампсии до настоящего времени не изучены, что обуславливает актуальность данной работы. Актуальным также представляется характеристика внутри- и межпопуляционной вариабельности транскриптома отдельных клеток, и установление ее роли в патогенетических механизмах осложненного течения беременности в контексте выявления влияния сил не-нейтральной эволюции на формирование транскриптомного ландшафта децидуальных клеток.

Степень научной разработанности темы исследования

Исследования плацентарного транскриптома представляют потенциал для улучшения понимания развития и функционирования плаценты в норме, а также выявления возможных механизмов осложнений беременности. Текущие достижения в области транскриптомики плаценты получены преимущественно на цельных тканях, а исследования единичных клеток в основном проведены при ФБ. Также стоит отметить, что экспрессионный профиль материнской части плаценты, и в частности децидуальной оболочки и составляющих ее ДК, практически не изучен на сегодняшний день.

Наряду с накопленным значительным массивом публикаций в области популяционной генетики, в большинстве из которых описана вариабельность полиморфных маркеров и геномов, транскриптомные исследования популяций человека с использованием высокопроизводительных технологий секвенирования проводятся

крайне редко. Также необходимо отметить, что среди вышеупомянутых исследований, существуют лишь единичные работы, в которых рассматриваются эволюционные факторы формирования транскриптома тканей. Большинство данных, подтверждающих идею межпопуляционных различий в экспрессии генов, получены с использованием лимфобластов и лимфобластных клеточных линий (LCL) [Keys K. et al., 2020; Delahaye F. et al., 2018]. Однако для понимания патологического процесса важно изучить функциональные возможности и реакции отдельного типа клеток, выделенных из нативных тканей.

Таким образом, в настоящей работе в рамках популяционно–генетических исследований с использованием технологии массового параллельного секвенирования изучены молекулярные механизмы ПЭ на уровне ДК, оценена вариабельность экспрессии генов ДК в четырех группах, представляющих больных и здоровых индивидов из двух популяционных выборок, на основании которой охарактеризована роль действия естественного отбора в формировании этого тяжелого осложнения беременности.

Цель исследования: Характеристика популяционной специфичности наследственной компоненты развития преэклампсии на транскриптомном уровне и выявление роли естественного отбора в ее формировании.

Задачи исследования:

1. Поиск дифференциально экспрессирующихся генов в децидуальных клетках при преэклампсии и физиологической беременности методом массового параллельного секвенирования.
2. Анализ общности и специфичности паттернов транскриптома децидуальных клеток у русских и бурят при физиологической беременности и преэклампсии.
3. Оценка межиндивидуальной и межгрупповой вариабельности полногеномного профиля экспрессии децидуальных клеток при физиологической беременности и преэклампсии в выборках русских и бурят.
4. Выявление сигналов естественного отбора по генам, экспрессирующимся в децидуальных клетках.
5. Характеристика биологических путей, связанных с популяционной специфичностью наследственной компоненты преэклампсии и сигналами не–нейтральной эволюции в транскриптом децидуальных клеток человека.

Научная новизна. Впервые в мире проведена оценка полнотранскриптомного профиля ДК плаценты с помощью технологии массового параллельного секвенирования, идентифицированы общие и специфичные для изученных популяций категории биологических процессов, связанные с развитием ПЭ. Общие ДЭГ, ассоциированные с ПЭ у русских и бурятских женщин принимают участие в процессах формирования нервных тканей, метаболизма фосфатидилхолина и транспорта жирных кислот. Гены, дифференциально экспрессирующиеся между русскими женщинами с ФБ и пациентками с ПЭ, задействованы в процессах поляризации мембран, метаболизма жирных кислот и катаболизма триглицеридов, тогда как для бурят анализ обогащения кластера ДЭГ демонстрирует связь с процессами апоптоза, дифференцировки и клеточного роста. Также в диссертационной работе впервые изучена популяционная

вариабельность транскриптома на уровне отдельных клеток. Полученные данные свидетельствуют о том, что пациентки с ПЭ характеризуются меньшей межпопуляционной и межиндивидуальной вариабельностью экспрессии генов в ДК по сравнению с женщинами с ФБ. Несомненной новизной обладают результаты, характеризующие роль не-нейтральной эволюции в генетической архитектуре ПЭ на уровне транскриптома ДК. Выявлено, что под действием естественного отбора находится более 7% генов, транскрибирующихся в ДК, из которых 114 генов также значимо изменяли уровень экспрессии между пациентками с ПЭ и женщинами с ФБ.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные в ходе выполненного диссертационного исследования новые знания расширяют представление о патогенетических путях и молекулярных мишенях при развитии тяжелого осложнения беременности – ПЭ. Научная значимость результатов заключается также в получении новых фундаментальных знаний о процессах, происходящих на уровне транскриптома ДК. В ходе реализации диссертационного исследования впервые получены данные, характеризующие степень межпопуляционной вариабельности транскриптома, а также этническую общность и специфичность транскриптомных профилей ДК при ПЭ и ФБ в популяциях России. Практическая значимость заключается в идентификации потенциальных маркерных молекул, значимых в патогенезе ПЭ.

Методология и методы исследования. В работе использовались современные методы клинической диагностики, высокотехнологичный метод получения ДК с помощью лазерной микродиссекции препаратов децидуальной ткани, передовые методы молекулярно–генетического анализа и статистической обработки данных. Молекулярно–генетические методы настоящего исследования включали в себя выделение РНК, ПЦР, синтез библиотек для секвенирования, массовое параллельное секвенирование полных транскриптомов ДК плаценты, проведение автоматического гель–электрофореза молекул РНК и кДНК. Статистический анализ данных секвенирования и последующая обработка полученных транскриптов проводились с применением пакета R, а также современных инструментов для интерпретации полногеномных данных.

Положения, выносимые на защиту:

1. Полнотранскриптомные профили децидуальных клеток, ассоциированные с преэклампсией, демонстрируют как популяционную специфику, так и общность. Общие для изученных популяций дифференциально–экспрессирующиеся гены связаны с процессами формирования нервных тканей, метаболизма фосфатидилхолина и транспорта длинноцепочечных жирных кислот.

2. Основными процессами, связанными с развитием преэклампсии на уровне транскриптома децидуальных клеток у русских женщин, являются поляризация мембран, метаболизм жирных кислот и катаболизм триглицеридов, тогда как дифференциально экспрессирующиеся гены у бурят сверхпредставлены в процессах апоптоза, дифференцировки и клеточного роста.

3. Пациентки с преэклампсией характеризуются меньшей межпопуляционной и межиндивидуальной вариабельностью экспрессии генов по сравнению с женщинами с физиологической беременностью.

4. Ассоциированные с преэклампсией гены, подверженные действию естественного отбора в транскриптоме децидуальных клеток, принимают участие в процессах формирования плаценты, организации сосудистой сети, поддержания иммунологической толерантности и связаны с патогенетическими звеньями тяжелого течения заболевания.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Достоверность результатов, полученных в настоящем исследовании, обеспечивается применением современных методов и технологий. Единичные ДК получали при лазерной микродиссекции препаратов плацентарной ткани. Анализировалось не менее 1000 ДК, морфология и целостность которых оценивали с помощью гистологического анализа. Кроме того, эксперименты по анализу уровня экспрессии генов в ДК плаценты включали две технические реплики для каждого из полученных образцов. Биоинформатический анализ данных, полученных с помощью полнотранскриптомного секвенирования, был проведен с оценкой модифицированного *t*-критерия Стьюдента с поправкой на множественность сравнений по методу Бенджамини–Хохберга (False Discovery Rate – FDR).

Апробация материалов диссертации. Основные результаты исследования были представлены для обсуждения на Всероссийском конгрессе молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» (Томск: 2020, 2022); V Международной научно–практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» (Екатеринбург, 2020); Международной конференции Европейского общества генетики человека (Берлин – 2020, онлайн конференция – 2021, Вена – 2022, Глазго – 2023); IX съезде Российского общества медицинских генетиков (онлайн–конференция, 2021); XXII Всероссийском научно–образовательном форуме Мать и Дитя (Москва, 2021); II Научно–практической конференции с международным участием «Здоровье женщины, плода, новорожденного» (Санкт–Петербург, 2022); Всероссийской конференции молодых ученых: «Генофонд и репродуктивное здоровье человека» (Санкт–Петербург, 2022); XIII научной конференции «Генетика человека и патология» (Томск, 2022).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, из них 5 статей в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 4 статьи в сборниках материалов конференций, 11 тезисных публикаций в материалах отечественных и международных конференций.

Личный вклад автора. Основные результаты диссертационного исследования получены автором самостоятельно. Поиск литературы по тематике диссертации, экспериментальный блок работ, анализ и статистическая обработка полученных данных, а также написание настоящей рукописи выполнено лично автором.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 203 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственного исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, приложения. Работа проиллюстрирована 35 рисунками и 37 таблицами.

Библиографический указатель содержит 328 источников, из них 24 отечественных и 304 зарубежных авторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение настоящего исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике Научно–исследовательского института медицинской генетики Томского НИМЦ (протокол №4 от 25.11.2019). От каждого из включенных в исследование участников получено информированное добровольное согласие. Когорта обследованных состояла из 17 женщин с ФБ (русские, $n=8$, бурятки, $n=9$) и 11 женщин с тяжелой формой ПЭ (русские, $n=6$, бурятки, $n=5$). Группы были сопоставимы по основным клиническим и антропометрическим характеристикам. Также не установлено различий по наличию сопутствующих соматических заболеваний (анемий, сердечно–сосудистых заболеваний, ожирения, заболеваний мочевыделительной системы).

Дизайн работы включал в себя несколько экспериментальных блоков: сбор материала, получение единичных ДК, выделение тотальной РНК, синтез библиотек и секвенирование (рисунок 1).



Рисунок 1 – Дизайн диссертационного исследования.

Формирование выборок и клиническая характеристика (осмотр, сбор анамнеза, жалоб и параклинических данных) женщин с ФБ и ПЭ проходила на базе Областного перинатального центра ГБУЗ Иркутская ордена «Знак Почета» (г. Иркутск), а также на базе ГАУЗ Республиканский перинатальный центр МЗ РБ (г. Улан–Удэ) при содействии чл.–корр. РАН, профессора РАН, д.м.н. Рычковой Л.В. Биоптаты плаценты получали во время родов, после чего ткани помещали в криопробирки и опускали в сосуды с жидким азотом. Единичные ДК были получены с помощью технологии лазерной микродиссекции препаратов тонких срезов, окрашенных гематоксилин–эозином. В ходе эксперимента проводили диссекцию 1000 морфологически однородных ДК. После

была выделена тотальная РНК, которую фрагментировали и далее осуществляли синтез библиотек. В данном эксперименте выполняли одноконцевое прочтение 75 циклов на платформе Illumina Next-seq 500. Расчетное число прочтений на образец составляло не менее 20 млн. После секвенирования полученные считывания выравнивались на геномом человека (сборка 38). Дальнейшую обработку для поиска генов, изменяющих экспрессию в группах, проводили в программной среде R с использованием пакета DEseq2. Статистически значимыми считались различия в уровнях нормализованной экспрессии с достигнутым уровнем значимости $p < 0,01$. Функциональная аннотация категорий и биологических путей, в которые вовлечены найденные гены, проводилось с использованием инструмента «WEB-based GENE SeT AnaLysis Toolkit» [Wang J. et al., 2013]. Построение сетей белок–белковых взаимодействий продуктов идентифицированных ДЭГ осуществляли с помощью онлайн ресурса STRING [Snel B. et al., 2000].

При расчете внутри-, межиндивидуальной и межгрупповой вариабельности транскриптомных данных применялась линейная модель. Общая вариабельность для транскрипта была разложена по трем коэффициентам, характеризующим внутрииндивидуальную (Net), межиндивидуальную (Nit) и межпопуляционную (Nst) компоненту дисперсии. Определение генов, находящихся под действием отбора, также основывалось на расчете коэффициентов вариабельности. После проведения стандартного пермутационного теста и на основании полученных коэффициентов, рассчитаны пороговые значения для генов, находящихся под действием четырех типов отбора – направленного, балансирующего, стабилизирующего и дизруптивного. Так, гены, находящиеся под действием направленного отбора имели максимальные значения коэффициента групповой вариабельности ($Nst > 0,2364317$ для группы контроля и $Nst > 0,339891$ для группы с ПЭ), тогда как для определения генов под действием балансирующего отбора отобраны те случаи, при которых доля вариабельности среди индивидов превышала долю вариабельности между группами ($Nig > 0,99999$ для группы контроля и $Nig > 0,9999844$ для группы с ПЭ). Для стабилизирующего и дизруптивного отборов в качестве пороговых значений приняты первый и 99-й перцентили от стандартного отклонения фактора индивидуальной вариабельности (SSB).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поиск дифференциально экспрессирующихся генов децидуальных клеток при преэклампсии и физиологической беременности

В рамках данной работы получено 56 транскриптомов ДК от 28 уникальных образцов. После выравнивания на геном человека среднее покрытие на образец составило 13 млн. прочтений. Всего в анализ включено 16636 транскриптов с CPM > 1 , среди которых выявлено 298 генов, дифференциально экспрессирующихся при ПЭ и ФБ, у русских и 536 генов у бурят ($p < 0,01$; FC (fold change – кратность изменения экспрессии транскрипта) больше 2).

Для 164 ДЭГ из 298 была характерна гиперэкспрессия у русских женщин с ПЭ по сравнению с женщинами из контрольной группы. Большая часть гиперэкспрессирующихся генов с максимальными показателями FC относилась к категории некодирующих РНК и псевдогенов (здесь и далее по тексту в данном разделе

приводится перечень десяти ДЭГ с максимальным или минимальным показателем FC, *RNU6-6P*, *MT-TS2*, *RNU5B1*, *AC074135*, *VTRNA1-1*, *RNA5SP336*) и лишь 4 транскрипта кодировали белки (*NSFP1*, *CTSW*, *CPEB1*, *NCAM1*). Гипоэкспрессия в образцах русских с ПЭ была показана для 134 ДЭГ. К транскриптам, с максимальными коэффициентами различий для групп контроля и ПЭ относятся два транскрипта некодирующих РНК (*AL117329.1* и *AC073367.1*), а также восемь белок-кодирующих генов (*KRT5*, *FABP5*, *KCNT2*, *PCDH7*, *FABP7*, *KCNN2*, *SDR42E1*, *CAPNS2*). До настоящего времени не сообщалось о роли вышеперечисленных генов в патогенезе ПЭ.

Чтобы функционально охарактеризовать изменения в транскриптомном профиле, связанные с ПЭ, была проведена аннотация биологических путей, характерных для 289 ДЭГ. Установлено, что данные гены значимо сверхпредставлены в таких биологических путях, как метаболические и катаболические процессы глицеридов и жирных кислот, а также процессы поляризации клеточных мембран. Известно, что жирные кислоты и их производные являются главными элементами липидного обмена и «строительными блоками» клеточной стенки. Показано, что у женщин с ПЭ в третьем триместре наблюдается «атерогенный» липидный профиль, который может быть потенциальным фактором дисфункции эндотелиальных клеток [Щербаков В. и др., 2020; Belo L. et al., 2002].

Сетевой анализ кластера ДЭГ у русских свидетельствует о том, что более 40% генов (123 гена) находятся во взаимодействии (рисунок 2).

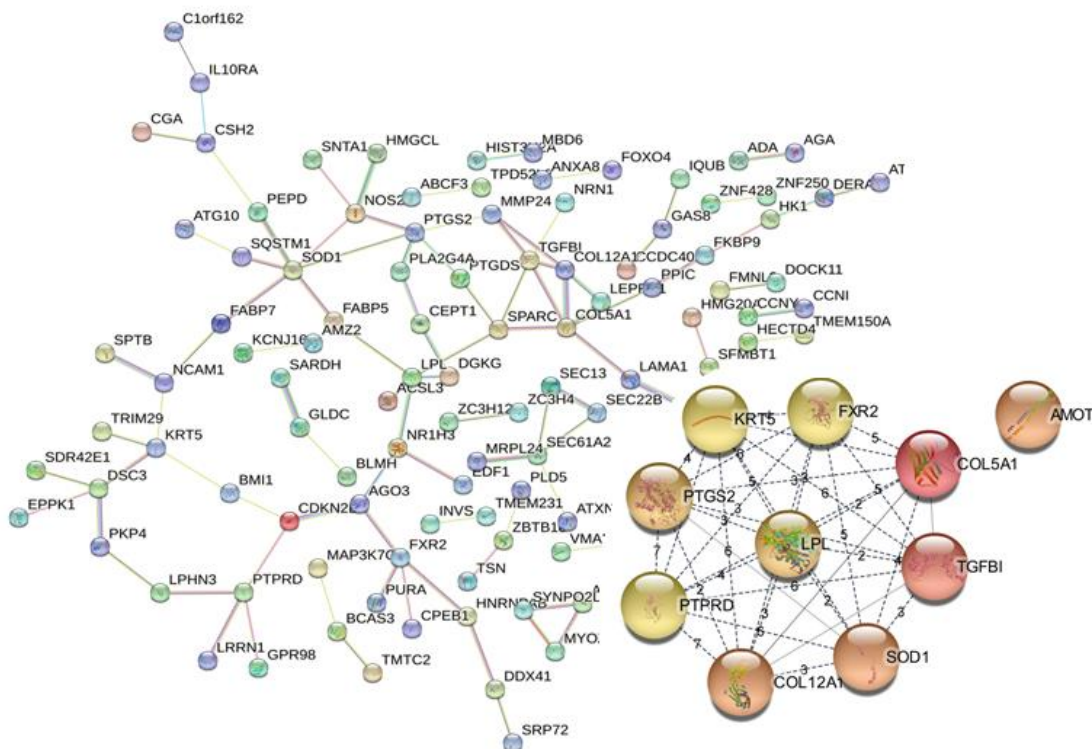


Рисунок 2 – Сеть белок-белковых взаимодействий продуктов ДЭГ, идентифицированных при сравнении групп женщин с ФБ и ПЭ из русской популяции. Приводится масштабированное изображение кластера главных генов *COL5A1* и *TGFB*.

Центральными генами для данной сети выступили ген коллагена 1 типа *COL5A1* (ранг=1) и ген рецепторного белка трансформирующего фактора роста *TGFB* (ранг=2).

Показано, что для гена коллагена V типа характерно гипометилирование в плаценте больных ПЭ, по сравнению с контрольной группой [Ahmad F. et al., 2020; Kudo Y. et al., 2004], что будет приводить к повышенной экспрессии данного гена. Продукт гена *COL5A1* обладает способностью избирательно образовывать комплексы с тромбоспондином, что в свою очередь ведет к нарушению процессов ангиогенеза, роста сосудов и лежит в основе развития эндотелиальной дисфункции и манифестации ПЭ. В свою очередь, повышенный уровень изоформы TGFB в децидуальной оболочке может избирательно подавлять активацию субпопуляций децидуальных NK-клеток, что может привести к несбалансированному маточно–плацентарному иммунному ответу и способствовать возникновению ПЭ [Lafontaine L. et al., 2011; Anton L. et al., 2014].

Анализ дифференциально–экспрессирующихся генов при физиологической беременности и преэклампсии у бурят

При сравнении уровней экспрессии транскриптов децидуальных клеток у бурят с ФБ и ПЭ было выявлено 536 дифференциально – экспрессирующихся генов (ДЭГ). Гипоэкспрессия при ПЭ была характерна для 270 транскриптов, где самыми максимальными изменениями в основном обладали белок–кодирующие гены (*TEX29*, *SIK1*, *LINC01320*, *AL356747*, *LRRC7*, *PROM1*, *AL121949*, *DLGAP1*, *DEC1*, *DNAH2*, *CCDC168*). Для группы больных бурят с ПЭ идентифицировано 266 гиперэкспрессирующихся транскриптов, из которых максимальной кратностью изменений преимущественно обладали транскрипты категорий некодирующих РНК (*RNA5SP150*, *MT–TI*, *MT–TV*, *RNY4*, *MT–TD*, *RNU6–6P*, *RNU5A–1*, *AC022540*, *MARCO*, *PNMT*, *KRT24*). Интересно отметить, что в данной работе не удалось выявить совпадений в кластерах топовых гипо– и гиперэкспрессирующихся генов, идентифицированных для русских и бурятских женщин, что свидетельствует, вероятно, о значительной популяционной специфичности молекулярных механизмов ПЭ на уровне ДК в изученных выборках.

Наиболее представленными функциональными категориями при аннотации списка ДЭГ среди ФБ и ПЭ у бурят выступили сигнальный путь клеточного апоптоза, пути регуляции биосинтеза и процессов транскрипции, а также процессы дифференцировки костных, хрящевых и эпителиальных клеток. Предполагается, что при ПЭ изменяется баланс между программами пролиферации и апоптоза в эндотелиальных клетках, цито– и синцитиотрофобласте, что приводит в итоге к развитию плацентарной ишемии и формированию ПЭ [Sharp A. et al., 2010; Whitley G. et al., 2007; Куо С. et al., 2018; Raguema N. et al., 2020]. Необходимо отметить, что свидетельства индукции апоптоза в ДК при ПЭ получены впервые в данной работе. В тоже время нарушение экспрессии генов, связанных с дифференцировкой костных, хрящевых и эпителиальных клеток, может быть связано с механизмами задержки роста плода, часто сопутствующей развитию тяжелой ПЭ.

Примечательно, что по сравнению с сетью ДЭГ у русских, для бурят получена более обширная белковая сеть, включающая продукты 292 ДЭГ, в которой основным характером взаимодействий между структурными элементами сети явилась коэкспрессия – между 49,0% генов, а для 32,71% характерны непосредственные белок–

белковые связи (рисунок 3). Три гена из сети, обладали максимальным количеством связей и наивысшим коэффициентом кластеризации – ген гистонового компонента нуклеосом *HIST2H2AC* (ранг=1), ген ДНК–зависимой РНК–полимеразы *POLR2B* (ранг=2), а также ген семейства малых G–белков *RHOA* (ранг=3).

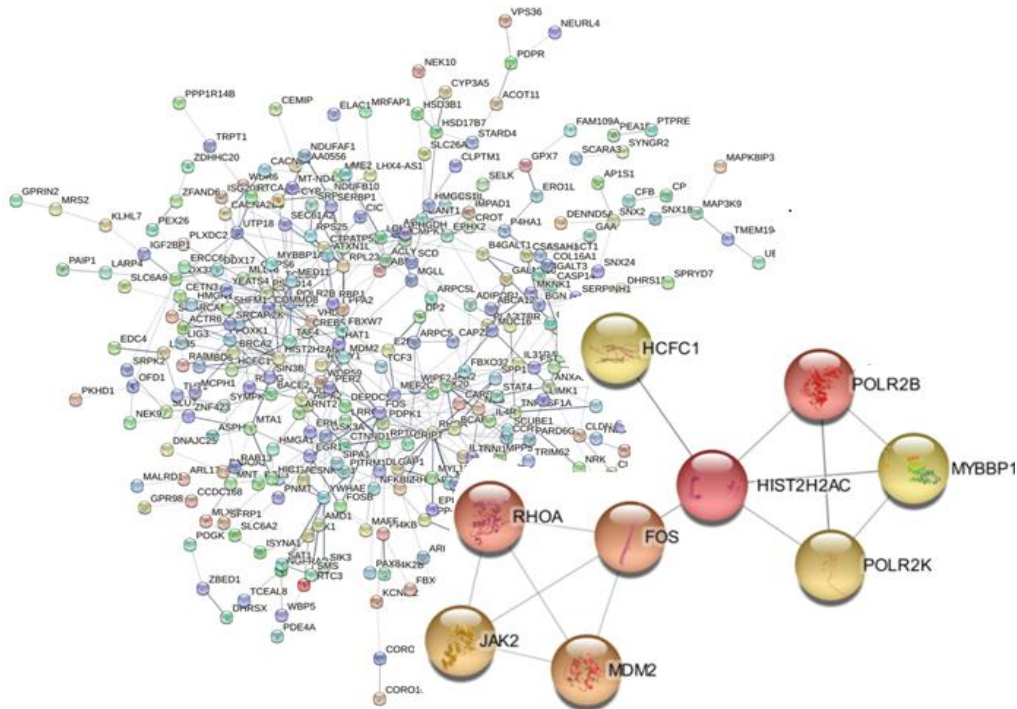


Рисунок 3 – Сеть белок–белковых взаимодействий продуктов ДЭГ, идентифицированных при сравнении групп женщин с ФБ и ПЭ из бурятской популяции. Приводится масштабированное изображение кластера главных генов: *HIST2H2AC*, *POLR2B* и *RHOA*.

Ген ДНК–зависимой РНК–полимеразы *POLR2B* принимает участие в ряде сигнальных путей, в частности, при передаче сигнала через тирозинкиназные мембранные рецепторы. Нарушение трансмембранной передачи сигналов может приводить к дисбалансу в процессах роста, дифференцировки и апоптоза клеток, аномальной плацентации и впоследствии к развитию ПЭ. Также известно, что сигнальный путь RhoA/ROCK участвует в процессах роста эндометрия, дисфункция которых способствует нарушению нормального перерождения эндометриальной ткани и, как следствие, трудностям на этапах инвазии и имплантации зародыша [Roberts J. et al., 2017].

Анализ общих дифференциально–экспрессирующихся генов при физиологической беременности и преэклампсии у русских и бурят

При сопоставлении кластеров ДЭГ между группами с ФБ и ПЭ у русских и бурят идентифицировано 48 пересекающихся транскриптов, отражающих общие пути патологического процесса. Интересно отметить, что большинство общих ДЭГ гиперэкспрессированы как у русских, так и у бурят (32 гена), тогда как два гена (*ADGRV1*, *MICAL2*) характеризовались гипоекспрессией в рассматриваемых популяционных выборках. Однако для ряда генов наблюдалось разнонаправленное

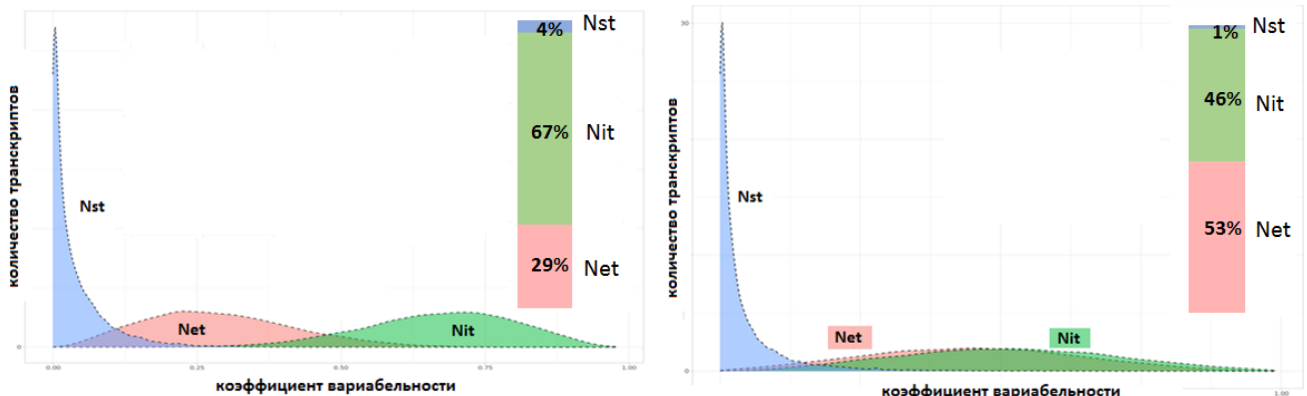
изменение экспрессии. Так 7 генов (*ATXN1L*, *MBD6*, *SEC61A2*, *RTN4RL2*, *LINC00958*, *MTND5P11*, *AC074135.1*) были гиперэкспрессированы у русских женщин с ПЭ по сравнению с женщинами с ФБ, однако у бурят в выборке с ПЭ эти гены были гипоекспрессированы по сравнению с женщинами из контрольной группы. Гипоекспрессия в образцах русских женщин с ПЭ установлена для 7 генов (*PLA2G4A*, *TGFBI*, *C4BPB*, *PLD5*, *CACNA2D3*, *ACSL3*, *ATP5PB*), в то время как у бурят эти гены были гиперэкспрессированы при ПЭ. Для представленных генов не найдено информации о прямой связи с развитием ПЭ или иной плацентарной патологии, однако для части генов показана роль в процессах развития трофобласта (дифференцировки, инвазии), регуляции развития плаценты и сосудистой дисфункции [Wolski H. et al., 2022; Valenzuela–Melgarejo F. et al., 2021; Maeda K. et al., 2019; Woods L. et al., 2018; Mohlin F. et al., 2013].

Хочется отметить, что 48 общих ДЭГ сверхпредставлены в категориях процессов биосинтеза, метаболизма и транспорта жирных кислот, а также процессов организации структур головного мозга и развития центральной нервной системы. В каждой из перечисленных категорий представлен ген семейства длинноцепочечных ацил–КоА–синтетаз (*ACSL3*), продукт которого активирует длинноцепочечные жирные кислоты, как для синтеза клеточных липидов, так и для их деградации посредством бета–окисления [Weedon M. et al., 2010]. Нарушение липидных параметров является важным патогенетическим фактором ПЭ [Pei Z. et al., 2003; Brasaemle D. et al., 2004]. Липиды и их производные способны вызвать повреждение эндотелия и, как следствие, повышение артериального давления и возникновение протеинурии – клинических симптомов ПЭ [Weedon M. et al., 2010]. Обнаружено, что концентрация общего холестерина, липопротеинов низкой и очень низкой плотности, а также триглицеридов значительно повышена у женщин с ПЭ по сравнению с женщинами без беременности и по сравнению с женщинами без гестационных осложнений [Zhou J et al., 2008], а уровень ЛВП снижен у женщин с ПЭ [Pei Z. et al., 2003].

Оценка межиндивидуальной и межгрупповой вариабельности полногеномного профиля экспрессии децидуальных клеток при физиологической беременности и преэклампсии в этнических выборках русских и бурят

Анализ коэффициента Nst, характеризующего межгрупповую вариабельность, свидетельствует о том, что доля межпопуляционных различий в выборке с ФБ составляет 4% (рисунок 3). Наряду с этим, при расчете данного параметра в группах с ПЭ можно наблюдать, что показатель межгрупповой вариабельности Nst снизился до 1%. Результаты оценки внутрипопуляционной изменчивости показывают снижение доли вариабельности среди индивидов в группах с осложненной беременностью (Nit=46%) по сравнению с ФБ (Nit=67%) (рисунок 4). Можно предположить, что развитие патологического процесса приводит к снижению межиндивидуальной вариабельности, так как будут задействованы схожие молекулярные пути и гены, что проявляется в «сходстве» транскриптомных профилей ДК у больных. Аналогичный эффект на геномных данных был ранее обнаружен при изучении ассоциаций полиморфных маркеров генов–кандидатов ПЭ в популяциях русских, якутов и бурят [Ворожищева А. и др., 2014]. В целом, оценки вариабельности для популяций русских и

бурят с ФБ согласуются с оценками, полученными ранее при анализе транскриптома плацентарной ткани женщин из популяционных выборок европеоидов, монголоидов и негроидов [Hughes D. et al., 2015].



А.

Б.

Рисунок 4 – Межпопуляционные (Nst), межиндивидуальные (Nit) и межреплекативные (Net) различия, полученные при анализе сумм квадратов (Nst–синий, Net–розовый и Nit–зеленый) для групп с ФБ (А) и с ПЭ (Б).

Чтобы охарактеризовать полученные данные по вариабельности и сопоставить с результатами, полученными при анализе дифференциальной экспрессии генов (ДЭГ между русскими и бурятами) был выполнен анализ транскриптов, обладающих наибольшей и наименьшей межпопуляционной вариабельностью (по 500 транскриптов с максимальными и минимальными значениями Nst).

Так, наименьшей вариабельностью для исследованных образцов русских и бурят при ФБ обладали транскрипты, участвующие в процессах регуляции активности апоптотических ферментов, тогда как наибольшие показатели вариабельности демонстрировали транскрипты, участвующие в процессах почечной фильтрации, а также регуляции АД, процессах, опосредованных белком TGFb, и передачей сигналов в клетке. В группе с ПЭ минимальными значениями межпопуляционной вариабельности обладали транскрипты, участвующие в созревании РНК, процессах клеточного деления и репарации, в то время как максимальные значения коэффициента групповой вариабельности были характерны для генов, также участвующих в репаративных процессах, процессах поляризации мембраны, формирования синаптических структур и биосинтезе холестерина. Примечательно, что ранее, при функциональной аннотации дифференциально экспрессирующихся при ФБ и ПЭ гены, также были сверхпредставлены в категориях, связанных с процессами метаболизма жирных кислот и липидов, мембранной поляризации и синаптической передачи сигналов, что дополнительно подчеркивает важную роль этих процессов в механизмах развития плацентарной дисфункции.

Выявление сигналов не–нейтральной эволюции в транскриптоме децидуальных клеток

Распределение экспрессии генов отдельно для групп с ФБ и ПЭ оценивалось по параметрам, соответствующим четырем специфическим моделям отбора: направленному, балансирующему, стабилизирующему и дизруптивному. Важно

отметить, что такой подход не дает информации о наличии отклонений от нейтральности, а идентифицирует гены, которые демонстрируют профили экспрессии, соответствующие отбору по количественным признакам [Whitehead A. et al., 2006].

Установлено, что в популяционной выборке женщин с ФБ доля генов, согласующаяся с моделью нейтрального дрейфа, составляет 95,8%. Самым распространенным типом отбора выступил стабилизирующий, влияние которого было отмечено для 207 генов (1,2%), далее следуют направленный и балансирующий отбор, которые влияют приблизительно на 1,0% всех генов (167 и 183 гена соответственно) и дизруптивный отбор, сигналы которого обнаружены в 0,9% транскриптома (149 генов).

В соответствии с полученными оценками, Количество генов, подверженных действию балансирующего и стабилизирующего отборов для пациенток с ПЭ составило 189 и 179 генов соответственно. С сигналами направленного и дизруптивного отбора было идентифицировано 153 и 156 гена соответственно (0,9%).

Для детальной оценки генов, находящихся под действием естественного отбора, и выявления их возможной роли в развитии заболевания, данный генный массив был сопоставлен с дифференциально экспрессирующимися генами, полученными при сравнениях индивидов с ФБ и ПЭ из русской и бурятской популяций. Согласно проведенному анализу, в совокупности 1232 гена (7,41% от всего транскриптома децидуальных клеток) находятся под действием отбора, из них 114 генов также изменяли уровень экспрессии в зависимости от наличия или отсутствия ПЭ у индивидов из исследуемых групп (рисунок 4). Таким образом, из 788 генов, дифференциально экспрессирующихся при ПЭ и ФБ, доля генов, для которых обнаружено действие естественного отбора, составила более 14%. Данный факт свидетельствует о том, что частота встречаемости сигналов отбора выше в группе генов, ассоциированных с развитием ПЭ, чем в целом по всему транскриптому ДК ($\chi^2 = 42,55$ при $p < 0,001$).



Рисунок 4 – Диаграмма Венна, описывающая общие и популяционно–специфичные гены, ассоциированные с развитием ПЭ, для которых также было зафиксировано действие факторов естественного отбора.

Анализ обогащения 114 вышеописанных транскриптов свидетельствует о сверхпредставленности данных генов в организации внеклеточного матрикса, формирования тканей, клеточной пролиферации, процессах регенерации и процессах, связанных с участием витаминов. Согласно базе данных DisGeNet показано значительное обогащение обозначенных транскриптов категориями таких патологических состояний, как протеинурия (C0033687), повышенный гематокрит (C0239935), мозговые кровоизлияния (C2937358) и снижение количества тромбоцитов (C0392386). Примечательно, что данные категории связаны либо с диагностическими критериями ПЭ, либо с симптомами, сопровождающими наиболее тяжелые варианты течения этой патологии – эклампсию и HELP–синдром.

Характеристика биологических путей, связанных с популяционной специфичностью наследственной компоненты ПЭ и сигналами не–нейтральной эволюции в транскриптом децидуальных клеток человека

Для оценки биологической значимости генных кластеров, демонстрирующих действие одного из четырех типов отбора в транскриптом ДК при ФБ и ПЭ, проведен анализ обогащения и установлены основные функциональные процессы, характерные для идентифицированных транскриптов (рисунок 5).

Примечательно, что только при анализе транскриптов, находящихся под силами дизруптивного отбора, получены одинаковые функциональные категории, как для ФБ, так и для ПЭ, преодолевшие порог поправки на множественные сравнения ($FDR < 0.05$). Так, под влиянием дизруптивного отбора находились гены, представленные в процессах организации внеклеточного матрикса, клеточной адгезии, созревания белка и развития сердечно–сосудистой и кровеносной систем организма.

Общность биологических процессов, в которых принимают участие гены, находящиеся под влиянием дизруптивного отбора и при ФБ и при ПЭ, отражает то, что именно эти гены отвечают за популяционную дифференциацию русских и бурят. Также необходимо подчеркнуть, что только при обогащении транскриптов, для которых отмечено действие направленного отбора, получены категории биологических путей, пересекающиеся с категориями, ранее выявленными при анализе ассоциированных с развитием ПЭ генов, что может свидетельствовать о преимущественном значении направленного отбора в формировании транскриптомных паттернов ДК, связанных с патогенетикой ПЭ.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что естественный отбор в процессе эволюции действовал на гены, важные для биологии плаценты, отвечающие за ее формирование, развитие сосудистой сети, окислительно-восстановительные реакции, организацию иммунологического микроокружения, внеклеточного матрикса и синаптический сигналинг – основополагающие процессы для нормального протекания беременности, дисфункцию которых можно рассматривать как субстрат для возникновения ПЭ.

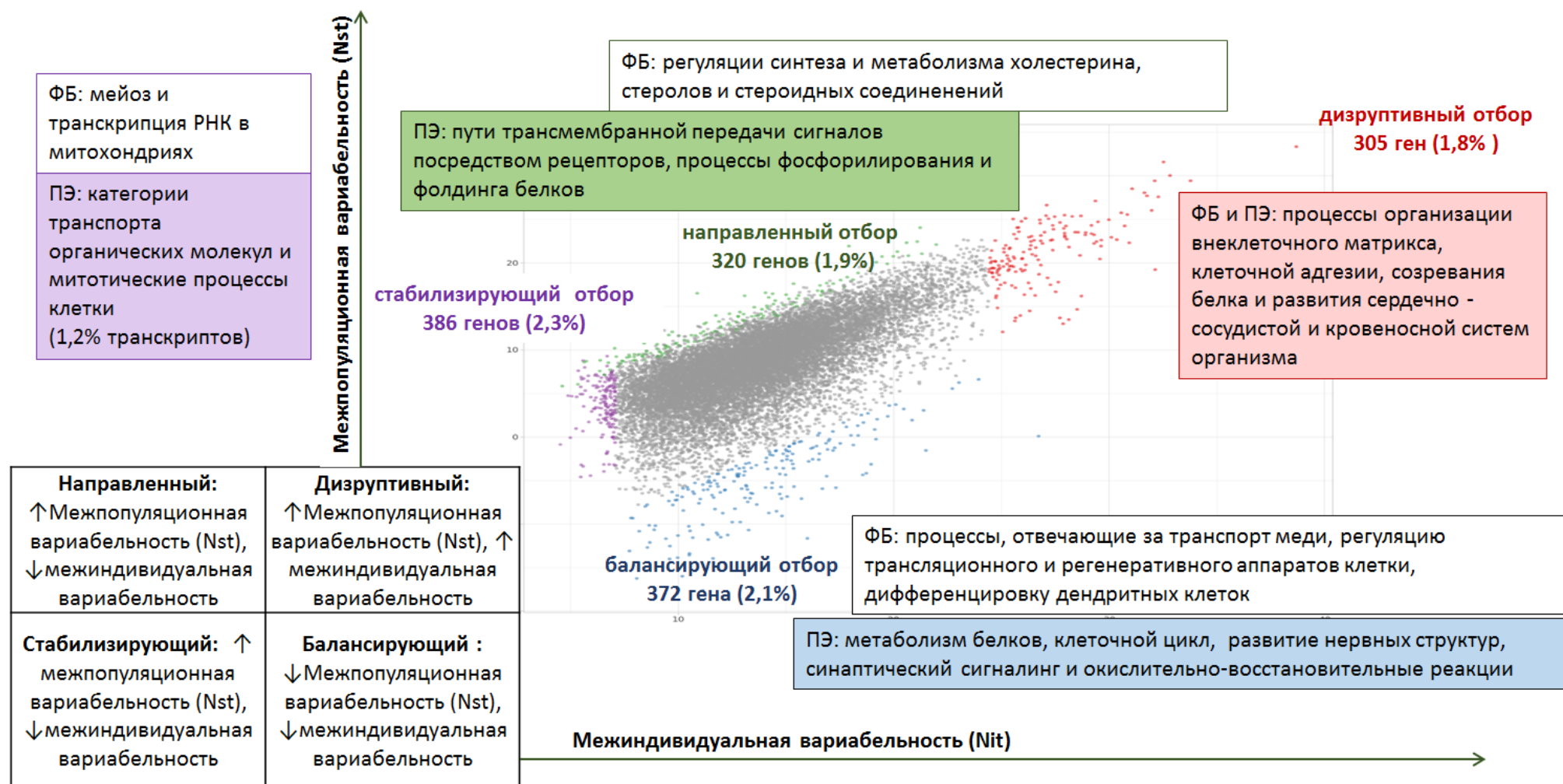


Рисунок 5 – Диаграмма рассеяния, отражающая транскрипты, находящиеся под действием направленного (зеленый), балансирующего (синий), стабилизирующего (фиолетовый) и дизруптивного (красный) отбора в децидуальных клетках. Приводится характеристика биологических путей (отдельно для ФБ и ПЭ), ассоциированных с идентифицированными транскриптами, для каждого типа отбора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании впервые охарактеризованы полногеномные экспрессионные профили децидуальных клеток при неосложненной беременности и преэклампсии у русских и бурятских женщин, а также осуществлен поиск сигналов естественного отбора в транскриптоме изученных клеток при патологической и физиологической беременности. Кроме того, в работе в рамках популяционно-генетических исследований с использованием технологии секвенирования нового поколения впервые в мире была проведена оценка межиндивидуальной и межпопуляционной вариабельности транскриптома на уровне отдельных клеток, полученных из нативных тканей человека.

Анализ дифференциальной экспрессии генов ДК в обследованных группах позволил выявить статистически значимые различия транскриптомного профиля при сравнении здоровых и больных индивидов из популяционных выборок русских и бурят. Установлено, что гены, ассоциированные с ПЭ у русских, сверхпредставлены в процессах метаболизма и активности молекул-производных жирных кислот, ионного транспорта и поляризации мембраны. Физиологическими эффектами изменения экспрессии генов, участвующих в перечисленных процессах, является нарушение водно-солевого обмена, которое рассматривается как значимый фактор развития отеков и артериальной гипертензии – основных патогенетических механизмов преэклампсии. В свою очередь у женщин с ПЭ зафиксировано увеличение атерогенных триглицеридов низкой плотности и снижение концентрации липопротеинов высокой плотности, что способствует атерогенезу и дисфункции спиральных артерий.

Показано, что изменения экспрессионного профиля ДК у бурятских женщин в результате ПЭ затрагивают сигнальный путь клеточного апоптоза, пути регуляции биосинтеза и процессов транскрипции, а также процессы дифференцировки костных, хрящевых и эпителиальных клеток, необходимых для нормального роста и развития организма. Изменение баланса между программами пролиферации и апоптоза в эндотелиальных клетках, а также в популяциях трофобласта могут приводить к плацентарной ишемии, нарушению процессов ангиогенеза и инвазии, что в свою очередь будет способствовать развитию преэклампсии. Кроме того, нарушение экспрессии генов, ответственных за дифференцировку костных, хрящевых и эпителиальных клеток, вероятно, может рассматриваться как один из патогенетических факторов задержки роста плода.

Установлены существенные различия как в ДЭГ, так и в биологических путях, регуляторных и эпигенетических элементах, связанные с популяционной спецификой транскриптомного профиля ДК, ассоциированного с ПЭ. Для более детального анализа наблюдаемого вклада популяционной принадлежности на паттерны транскриптома при ПЭ, проведены сравнения экспрессионных профилей ДК между русскими и бурятами в пределах одного фенотипа – ФБ и ПЭ. Результаты данного анализа также продемонстрировали высокую степень популяционных особенностей транскриптомного профиля ДК, сигнальных путей и биологических процессов, ассоциированных с ДЭГ. Можно предположить, что такая высокая популяционная специфичность может быть

обусловлена высокой вариабельностью экспрессии генов среди индивидуумов, либо действием популяционно-специфичных факторов не-нейтральной эволюции при формировании генетической архитектуры транскриптного профиля децидуальных клеток.

Полученные оценки вариабельности в представленных выборках свидетельствует о том, что доля межпопуляционных различий среди индивидов с физиологической беременностью составляет 6%. В то же время аналогичный показатель межгрупповой вариабельности (N_{st}) в группах с составил всего 1%, такая тенденция может быть в результате того, что молекулярные механизмы болезни приводят к частичной элиминации популяционной специфики транскриптомов. Интересно отметить, что среди индивидов в группах с осложненной беременностью доля внутривнутрипопуляционной изменчивости была меньше ($N_{it}=46\%$), чем данный показатель в группе с физиологической беременностью ($N_{it}=67\%$). Вышеописанные результаты укладываются в гипотезу академика РАН, д.б.н. Степанова В.А. [Степанов В.А. и др., 2010] о том, что проявление одного и того же патологического процесса может приводить к уменьшению геномного разнообразия и транскриптомной вариабельности в выборке больных в связи с активацией схожих механизмов патологического процесса, в результате чего показатель внутри- и межгрупповой дисперсии экспрессии генов-кандидатов заболевания становится ниже. Согласно данным, полученным в настоящей диссертационной работе, развитие патологического процесса приводит к снижению межиндивидуальной и межпопуляционной вариабельности, что проявляется в большем сходстве транскриптных профилей ДК пациенток с ПЭ по сравнению с женщинами с физиологической беременностью.

Также впервые в данной работе осуществлен поиск факторов не-нейтральных сил эволюции в структуре транскриптома децидуальных клеток плаценты у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией. Показано, что большая часть вариабельности экспрессии генов децидуальных клеток согласуется с моделью нейтрального дрейфа. В совокупности (и для преэклампсии и для физиологической беременности) 1232 гена (7,41% от всего транскриптома децидуальных клеток) находятся под действием естественного отбора, из которых 114 генов также являются дифференциально – экспрессирующимися в исследованных группах здоровых и больных индивидов (14,47% от числа всех 788 дифференциально-экспрессирующихся генов), а частота встречаемости сигналов отбора выше в группе дифференциально-экспрессирующихся генов, чем в целом по всему транскриптому ($\chi^2 = 42,55$ при $p < 0,001$). Данный факт свидетельствует о существенной роли направленных сил эволюции при формировании транскриптного профиля децидуальных клеток, характерного для пациенток с преэклампсией по сравнению с женщинами с физиологической беременностью.

В транскриптоме децидуальных клеток зафиксировано преимущественно действие такого типа естественного отбора, как стабилизирующий (2,5% от всех транскриптов, найденных ДК), что согласуется с данными, полученными при анализе регуляторных участков генома, ассоциированных с ПЭ [Сереброва В. и др., 2020]. Наряду с этим, только для транскриптов, демонстрирующих сигналы направленного отбора, получены

категории биологических путей, которые также ранее были выявлены при функциональной аннотации ДЭГ, ассоциированных с развитием ПЭ как в русской так и бурятской популяциях. Это может свидетельствовать о значительном влиянии направленного отбора на гены, продукты которых вовлечены в патогенетические механизмы ПЭ. Результаты аннотации в базе данных DisGeNet 114 дифференциально экспрессирующихся при ПЭ и ФБ генов, для которых также было зафиксировано действие естественного отбора, позволили установить значительное обогащение обозначенных транскриптов категориями таких патологических состояний, как протеинурия (C0033687), повышенный гематокрит (C0239935), мозговые кровоизлияния (C2937358) и снижение количества тромбоцитов (C0392386). Примечательно, что данные категории связаны либо с диагностическими критериями ПЭ, либо с симптомами, сопровождающими наиболее тяжелые варианты течения этой патологии – эклампсию и HELP–синдром.

Таким образом, проведенный в диссертационной работе полногеномный анализ экспрессии генов децидуальных клеток позволил получить новые данные о молекулярных механизмах преэклампсии, внутри- и межпопуляционной вариабельности транскриптома, а также выявить о значимую роль естественного отбора в формировании популяционных особенностей транскриптомного профиля этого заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Полнотранскриптомный анализ децидуальных клеток плаценты женщин из русской популяции позволил выявить 298 генов, экспрессия которых значимо различалась между пациентками с ПЭ и женщинами с физиологической беременностью. В бурятской популяции выявлено 536 дифференциально экспрессирующихся генов в контрольной выборке и группе индивидов с преэклампсией. Установлено 48 общих для изученных популяций дифференциально экспрессирующихся генов, которые сверхпредставлены в процессах формирования нервных тканей, метаболизма фосфатидилхолина и транспорта длинноцепочечных жирных кислот.
2. Транскриптомный профиль децидуальных клеток у пациенток с преэклампсией из русской популяции ассоциирован с такими процессами как поляризация мембран, метаболизм жирных кислот и катаболизм триглицеридов, тогда как для бурят анализ обогащения кластера дифференциально экспрессирующихся генов демонстрирует связь с процессами апоптоза, дифференцировки и клеточного роста.
3. Доля межпопуляционных различий в общей вариабельности транскриптома децидуальных клеток индивидов с физиологической беременностью составила 6%, тогда как в группах с преэклампсией этот показатель составил 1%. Доля внутрипопуляционной изменчивости в транскриптоме децидуальных клеток среди индивидов с преэклампсией также была ниже ($N_{it}=46\%$) по сравнению с физиологической беременностью ($N_{it}=67\%$).
4. Более 7% генов, транскрибирующихся в децидуальных клетках, находятся под действием естественного отбора. Частота встречаемости сигналов отбора выше в

кластере дифференциально экспрессирующихся генов (14,47%), чем в целом по всему транскриптому децидуальных клеток ($\chi^2 = 42,55$ при $p < 0,001$).

5. Гены децидуальных клеток, ассоциированные с преэклампсией и находящиеся под действием естественного отбора, принимают участие в формировании плаценты, организации сосудистой сети, поддержания иммунологической толерантности и связаны с протеинурией, повышенным гематокритом, мозговыми кровоизлияниями и тромбоцитопенией.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК:

1. Бабовская А.А., Трифонова Е.А., Зарубин А.А., Марков А.В., Степанов В.А. Анализ коэкспрессии генов плацентарного транскриптома как основа для поиска ключевых сигнальных путей и биомаркеров преэклампсии. Медицинская генетика. – 2020. – Т.19. – №11. – С. 71-72. DOI: 10.25557/2073-7998.2020.11.71-72. RSCI
2. Трифонова Е. А., Марков А. В., Зарубин А. А., Бабовская А. А., Куценко И.Г., Габидулина Т. В., Ижойкина Е. В., Сереброва В. Н., Степанов В.А. Анализ коэкспрессии генов плацентарного транскриптома как основа для поиска ключевых сигнальных путей и биомаркеров больших акушерских синдромов. Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2021. – Т. 36. – № 4. – С. 144-155. DOI:10.29001/2073-8552-2021-36-4-144-155. Scopus
3. Бабовская А.А., Е. А. Трифонова, В. Н. Сереброва, М. Г. Сваровская, А. А. Зарубин, О. В. Жиликова, Т. В. Габидулина, А. А. Полтанова, Л. В. Рычкова, В.А. Степанов. Протокол полнотранскриптомного анализа децидуальных клеток плаценты. Молекулярная биология.- 2022.- 56(2).- С. 325–333. DOI:10.31857/S0026898422020045. WoS, Scopus
4. Трифонова Е.А., Гавриленко М.М., Бабовская А.А., Зарубин А.А., Сваровская М.Г., Ижойкина Е.В., Степанов И.А., Сереброва В.Н., Куценко И.Г., Степанов В.А. Ландшафт альтернативного сплайсинга в децидуальных клетках плаценты при физиологической беременности. Генетика.- 2022.- 58(10).- С. 1210-1220. DOI: 10.31857/S0016675822100101 WoS, Scopus
5. Бабовская А.А., Е. А. Трифонова, В. Н. Сереброва, М. Г. Сваровская, А. А. Зарубин, Л. В. Рычкова, В.А. Степанов. Идентификация популяционных особенностей транскриптома децидуальных клеток при тяжелой форме преэклампсии. Медицинская генетика. – 2022. – Т.21. – №7. – С. 15-19. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2022.07.15-18>. RSCI

Статьи в научных сборниках:

6. Бабовская А.А., Трифонова Е.А., Зарубин А.А., Марков А.В., Степанов В.А. Поиск ключевых генов преэклампсии с помощью интегративного биоинформатического анализа // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: Материалы V Международной научно–практической конференции молодых учёных и студентов, посвященной 75–летию Победы в Великой Отечественной войне, 90–летию УГМУ и 100–летию медицинского образования на Урале, Екатеринбург, 09–10 апреля 2020 года. Том 2. – Екатеринбург: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2020. – С. 189–194.
7. Бабовская А.А., Трифонова Е.А., Зарубин А.А., Марков А.В., Степанов В.А. Поиск ключевых прогностических генов преэклампсии с помощью анализа модулей коэкспрессии плацентарного транскриптома // Актуальные вопросы фундаментальной и

клинической медицины: сборник материалов конгресса молодых ученых [Электронный ресурс], Томск, 19–20 ноября 2020 г. — Томск: Изд-во Том. ун-та, 2020.— С. 9–11.

8. Бабовская А.А., Трифонова Е.А., Сереброва В.Н., Сваровская М.Г., Зарубин А.А., Рычкова Л.В., Степанов В.А. Идентификация популяционно-специфичных маркеров преэклампсии с помощью полнотранскриптомного профилирования децидуальных клеток плаценты//Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины, сборник материалов конгресса молодых ученых, Томск, 26–27 мая 2022 года. — Томск: Изд-во Том. ун-та, 2022.— С. 6–9.
9. Гавриленко М. М., Бабовская А. А., Зарубин А. А., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Профиль событий альтернативного сплайсинга децидуальных клетках плаценты при физиологической беременности//Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины: Сборник материалов конгресса молодых ученых, Томск, 26–27 мая 2022 года. — Томск: Национальный исследовательский Томский государственный университет, 2022. — С. 12–15.

Тезисы конференций:

10. Trifonova E.A., Zarubin A., Babovskaya A., Markov A., Stepanov V. Placental transcriptome co-expression analysis reveals key biomarkers and pathways of preeclampsia// Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2020) : The Twelfth International Multiconference (06–10 July 2020, Novosibirsk, Russia); Abstracts/ [Электронный ресурс], 06–10 July 2020, Novosibirsk, Russia.- Novosibirsk: ICG SB RAS.- 2020. — P. 546.
11. Babovskaya A. A., Trifonova E. A., Zarubin A. A., Mustafin Z. S., Lashin S. A., Markov A. V., Stepanov V. A.. Phylostratigraphic analysis of co-expression network reveals evolutionary compositions of preeclampsia// European Journal of Human Genetics.-2020.-28(141).-P.710.
12. Бабовская А. А., Трифонова Е. А., Сереброва В. Н., Сваровская М. Г., Зарубин А. А., Жилякова О. В., Габидулина Т. В., Полтанова А. А., Степанов В. А.. Характеристика экспрессионного профиля децидуальных клеток плаценты// Материалы конференции «XXII Всероссийский научно-образовательный форум Мать и Дитя – 2021».— Москва: Изд-во МЕДИ Экспо, 2021.— С.5.
13. Трифонова Е.А, Бабовская А.А., Зарубин А.А, Степанов В.А. Генетические факторы развития преэклампсии в популяциях различного этнического происхождения// Генетические ресурсы и генетические технологии для развития северных территорий : материалы конференции, г. Санкт-Петербург, 21–22 декабря 2021 г. : научное текстовое электронное издание / Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Вавиловское общество генетиков и селекционеров (ВОГиС) ; под общей редакцией Е. К. Хлесткиной. – Санкт-Петербург: ВИР, 2021.— С. 60–61.
14. Babovskaya A. A., Trifonova E. A., Swarovskaya M., Serebrova V., Zarubin A. A., Stepanov V. A.. Transcriptome landscape of the human decidual cells// uropean Journal of Human Genetics.-2022.-V.30:88.-P.93-94. doi.org/10.1038/s41431-021-01026-1.
15. Trifonova E. A., Babovskaya A. A., Zarubin A. A., Markov A., Stepanov V. A.. Placental tissue co-expression networks across Russians and Yakuts identify key genes and pathways for preeclampsia// European Journal of Human Genetics.-2022.-V.30:88.-P.108-109. doi.org/10.1038/s41431-021-01026-1.
16. Бабовская А.А., Зарубин А.А. Идентификация биомаркеров преэклампсии с помощью сетевых подходов анализа плацентарного транскриптома // Конкурс молодых ученых II научно-практической конференции с международным участием

«Здоровье женщины, плода, новорожденного»: Сборник материалов конференции 21-23 апреля 2022, г. Санкт-Петербург.– 2022. – С. 7-9.

17. Ижойкина Е.В., Гавриленко М.М., Бабовская А.А. Ассоциация полиморфных маркеров генов GLIS1 и TFAP2A с осложненным течением беременности // Конкурс молодых ученых II научно-практической конференции с международным участием «Здоровье женщины, плода, новорожденного»: Сборник материалов конференции 21-23 апреля 2022, г. Санкт-Петербург.– 2022. – С. 11-13.
18. Бабовская А. А., Трифонова Е. А., Сереброва В. Н., Сваровская М. Г., Зарубин А. А., Ижойкина Е.В., Степанов В. А.. Характеристика полнотранскриптомного профиля децидуальных клеток в популяциях России// Сборник тезисов всероссийской конференции молодых ученых "Генофонд и репродуктивное здоровье человека" 22-23 июня 2022 года г. Санкт-Петербург.-С. 2-3.
19. Трифонова Е. А., Сереброва В. Н., Габидулина Т.В., Зарубин А. А., Бабовская А. А., Гавриленко М.М., Степанов В. А. Молекулярно–генетические детерминанты преэклампсии в популяциях различного этнического происхождения// Сборник тезисов всероссийской конференции молодых ученых "Генофонд и репродуктивное здоровье человека" 22-23 июня 2022 года г. Санкт-Петербург.- С. 23-24.
20. Трифонова Е. А., Гавриленко М.М., Бабовская А. А., Зарубин А. А., Степанов В. А.. Паттерны альтернативного сплайсинга в децидуальных клетках плаценты при физиологической беременности // III Всероссийская конференция «Высокопроизводительное секвенирование в геномике»: сборник материалов конференции, Новосибирск 22–24 июня 2022.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CPM – количество прочтений на миллион

FC – (fold change) кратность изменения уровня экспрессии гена

LCL – лимфобластные клеточные линии (англ. lymphoblastoid cell lines)

Net – коэффициент внутрииндивидуальной дисперсии (SS_e/SS_T)

NGS – секвенирование следующего поколения, массовое параллельное секвенирование (англ. Next-Generation Sequencing)

Nig – Коэффициент количественной оценки межиндивидуальной вариабельности по отношению к общей межиндивидуальной и межгрупповой вариабельности ($SS_B / (SS_A + SS_B)$)

Nis – Коэффициент количественной оценки величины межиндивидуальной вариабельности по отношению к общей меж– и внутрииндивидуальной вариабельности ($SS_B / (SS_B + SS_e)$)

Nit – коэффициент межиндивидуальной вариабельности (SS_B/SS_T)

Nst – коэффициент групповой вариабельности (SS_A/SS_T)

Webgestalt – Набор онлайн инструментов для анализа генов

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

ДК – децидуальные клетки

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДЭГ – дифференциально–экспрессирующийся ген

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЭ – преэклампсия

РНК – рибонуклеиновая кислота

ФБ – физиологическая беременность

Просьба высылать отзывы на автореферат по адресу:

НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ
634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10
Ученому секретарю диссертационного совета 24.1.215.03
канд. биол. наук Хитринской И.Ю.
e-mail: khitrinskaya@tnimc.ru