

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ
ГЕНЕТИКИ

На правах рукописи



Бабовская Анастасия Александровна

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

1.5.7 – генетика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук
Трифорова Екатерина
Александровна

Томск – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1 Транскриптомные технологии в изучении генетического разнообразия современных популяций человека	14
1.2 Краткая характеристика этиологии и патогенеза преэклампсии. Роль децидуальной ткани в патогенезе преэклампсии	21
1.3 Современные подходы и основные результаты по изучению транскриптомного профиля плаценты человека	27
1.4 Роль естественного отбора в формировании заболеваний человека ..	40
1.5 Заключение по обзору литературы.....	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.....	46
2.1 Дизайн исследования	46
2.2 Характеристика обследованных групп	48
2.3 Технология получения единичных децидуальных клеток плаценты .	51
2.4 Молекулярно-генетические методы исследования.....	54
2.5 Статистическая обработка полученных данных	58
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	62
3.1.1 Анализ дифференциально экспрессирующихся генов при физиологической беременности и преэклампсии у русских индивидов ..	64
3.1.2 Анализ дифференциально экспрессирующихся генов при физиологической беременности и преэклампсии у бурят.....	72
3.1.3 Анализ общих дифференциально экспрессирующихся генов при физиологической беременности и преэклампсии у русских и бурят.....	81
3.2 Анализ популяционной общности и специфичности паттернов транскриптома децидуальных клеток у русских и бурят	87

3.2.1. Анализ общности и специфичности паттернов транскриптома децидуальных клеток у русских и бурят при физиологической беременности.....	89
3.2.2 Анализ общности и специфичности паттернов транскриптома децидуальных клеток у русских и бурят при преэклампсии	94
3.2.3 Анализ общности и специфичности паттернов транскриптома децидуальных клеток у русских и бурят при физиологической беременности и ПЭ	99
3.3 Оценка межиндивидуальной и межгрупповой вариабельности полногеномного профиля экспрессии децидуальных клеток при физиологической беременности и преэклампсии в этнических выборках русских и бурят	108
3.4 Выявление сигналов не-нейтральной эволюции в транскриптом децидуальных клеток.....	117
3.5 Характеристика биологических путей, связанных с популяционной специфичностью наследственной компоненты ПЭ и сигналами не-нейтральной эволюции в транскриптом децидуальных клеток человека	125
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	133
ВЫВОДЫ	138
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	140
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	143
ПРИЛОЖЕНИЕ А	180
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	196

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Изучение генной экспрессии представляет значительный интерес для исследователей, поскольку данный процесс является основным механизмом, посредством которого информация, закодированная в геноме, преобразуется в фенотипы, а нарушение транскрипционной активности генов вовлечено в патогенез многочисленных заболеваний. Понимание закономерностей изменения экспрессии генов как на уровне отдельных индивидов в популяциях человека, так и на межпопуляционном уровне, предоставит важную информацию о молекулярной основе фенотипического разнообразия, необходимую для интерпретации моделей изменения экспрессии генов при патологии [250]. Особый интерес в данном контексте представляют гены, дифференциально экспрессирующиеся между популяциями, так как они могут рассматриваться в качестве наиболее вероятных локусов подверженности к болезням, распространенность которых варьирует в зависимости от популяционной принадлежности или условий проживания индивидов [59, 250]. После первоначальных исследований, основанных на анализе вариабельности транскриптома с помощью микрочипов, были получены данные, свидетельствующие о существенном разбросе оценок вариабельности генной экспрессии, полученных в разных экспериментах. В свою очередь, динамическое развитие высокопроизводительных методов секвенирования (NGS) позволило при анализе не ограничиваться определенным набором транскриптов и шире исследовать транскриптом, что привело к ряду работ, в которых помимо подтверждения и оценки популяционных различий в уровне экспрессии значительного числа генов также делается упор на анализ механизмов, лежащих в основе этих различий. Одним из перспективных направлений для объяснения причин транскриптомной вариабельности является эволюционный подход, способствующий выявлению направленных сил, действующих на отдельные гены.

Согласно теории нейтральной эволюции, в случае дрейфа генов вариабельность числа аллелей носит случайный характер и не оказывает существенное влияние на биологический признак, однако если имеет место естественный отбор, то изменения признака имеют приспособительный характер и закрепляются или редуцируются в зависимости от сложившихся условий обитания. В связи с этим, понимание структуры и моделей изменения генной экспрессии имеет фундаментальное значение не только для биомедицинских исследований, но и для эволюционной биологии.

Одним из самых интересных объектов исследования с точки зрения поиска вариабельности экспрессии генов, связанной с не-нейтральными силами эволюции, является плацента. Выбор плацентарной ткани в качестве объекта исследования был продиктован тем, что профиль экспрессии генов значительно меняется с возрастом человека [4, 242], в связи с чем, для получения достоверных результатов при характеристике транскриптома необходимо сформировать максимально однородную выборку. Хорошо известно, что плацента формируется после имплантации зародыша и, таким образом, становится возможным сопоставить «возраст» ткани с точностью до недели. Также необходимо отметить, что изучение молекулярных процессов, происходящих в плацентарной ткани, рассматривается на сегодняшний день как наиболее перспективное направление исследований для раскрытия патофизиологических механизмов осложненного течения беременности, в частности преэклампсии [148, 87, 132].

Проблема профилактики и ранней диагностики преэклампсии продолжает оставаться одной из ведущих в акушерстве, поскольку частота этого осложнения беременности не снижается, несмотря на имеющиеся достижения в медицине и физиологии. Интересно, что результаты некоторых работ указывают на существование расовых и этнических различий частоты развития преэклампсии в современных популяциях человека. По некоторым данным, 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 [101, 98, 299]. Определенный вклад в вышеописанные различия может вносить межпопуляционная вариабельность уровней экспрессии генов и протеинов, важных в поддержании баланса между ангиогенными факторами, например, такими как фактор роста плаценты (PlGF), и антиангиогенными факторами (эндоглин (sEng) и рецептор эндотелиального фактора роста сосудов (sVEGFR-1)) [296]. Также следует отметить значительную роль в формировании данных отличий межпопуляционной вариабельности частот аллелей регуляторных полиморфных вариантов генов-кандидатов преэклампсии, обусловленной адаптивной эволюцией, действующей на протяжении формирования генофондов данных популяций [18, 20].

Согласно современным представлениям, основная причина развития преэклампсии – это нарушение этапов формирования плаценты. Пусковым механизмом является неполноценная инвазия трофобласта в спиральные артерии эндометрия. Данные события в децидуальной ткани включают целый каскад патогенетических механизмов, приводящий к развитию эндотелиальной дисфункции [11, 222, 156]. Известно, что децидуальная ткань располагается между клетками трофобласта и матки и тем самым выступает в качестве пограничной зоны. Она формируется из нескольких типов клеток, которые образуются в результате дифференцировки, деления и роста клеток-предшественников. Эта ткань характеризуется активным метаболизмом и высокой способностью к синтезу биологически-активных соединений (гормонов, углеводов, липидов, белков) [278]. Показано, что неиммунные децидуальные стромальные клетки (ДСК), которые составляют 75% от популяции клеток децидуальной ткани, обладают потенциалом для иммунологической защиты плода на границе между матерью и плодом, в том числе и посредством регуляции функций иммунных клеток децидуальной ткани [244, 61]. Кроме того, имеются данные, свидетельствующие о том, что

аномалии процессов децидуализации (созревания децидуальных клеток (ДК)) 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 [49, 67, 66]. Важнейшая роль децидуальных клеток в беременности дополнительно подчеркивается тем фактом, что нокаут генов различных децидуальных белков у мышей вызывает сбои в имплантации, приводит к бесплодию или внутриутробной гибели плода [230]. В связи с чем, децидуальные клетки, являющиеся неотъемлемым звеном благополучного течения беременности, были выбраны в качестве объекта для изучения в настоящей работе. Стоит подчеркнуть, что изменения в транскриптомном профиле децидуальных клеток при преэклампсии до настоящего времени не изучено. Существуют единичные работы, в которых приводится анализ секвенирования единичных клеток (10x), выполненный на образце плаценты, тем не менее, анализ был проведен с целью характеристики популяций трофобласта и иммунных клеток в исследованных образцах, и не приводится никаких данных, касающихся транскриптома децидуальных клеток. Кроме того, несомненной актуальностью обладают направления исследований, посвященные характеристике внутри- и межпопуляционной вариабельности транскриптома отдельных клеток, а также установлению 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

Несмотря на накопленный массив работ в области популяционной генетики, большинство из них сосредоточены на описании геномов, присущих индивидам разных популяций, тогда как транскриптомные исследования популяций человека только набирают популярность. На сегодняшний день опубликовано порядка 30 работ, посвященных исследованию транскриптомных особенностей современных популяций

человека, и лишь треть из них выполнена с применением высокопроизводительных технологий секвенирования. Также необходимо отметить, что среди упомянутых исследований, лишь единичные работы стремятся к выявлению эволюционных причин, послуживших формированию транскриптомного ландшафта рассматриваемых популяций.

К настоящему времени наиболее всеобъемлющие исследования транскриптома в популяциях человека проведены для лимфобластных клеточных линий (LCL), собранных за последние несколько десятилетий, в том числе для проектов «Human Genome Diversity Panel», «HapMap», «gEUVADIS» и «1000 Genomes project» [253, 152, 178, 318]. Однако данные, полученные на LCL, требуют сопоставления с результатами анализа транскриптома нативных биологических тканей человека, поскольку некоторые LCL, собранные десятилетия назад, прошли через многочисленные циклы оттаивания и повторного замораживания, которые, как известно, оказывают влияние на уровни экспрессии генов [56].

Было показано, что межпопуляционные различия в уровне экспрессии генов являются наследуемыми и связаны с вариациями в геноме человека. Потенциальные механизмы включают инсерции и делеции (INDEL), вариации числа копий (CNV) [247, 318], SNP [253, 250, 318] или альтернативный сплайсинг [322, 152]. За последние несколько лет было показано, что популяционные различия, полученные в экспериментах на LCL, также наблюдаются для разных типов тканей и клеток [106, 34]. Таким образом, чтобы понять, как организована работа сложных тканей, важно изучить функциональные возможности и реакции отдельного типа клеток [176]. Эта задача требует выделения клеток из нативной ткани, так как LCL являются изолированными клетками, выращенными в искусственных условиях, анализ экспрессии которых не отражает клеточную гетерогенность или профиль экспрессии биологической ткани [141].

В настоящей работе в рамках популяционно-генетических исследований с использованием технологии массового параллельного

секвенирования проведена оценка распределения вариабельности экспрессии генов ДК в четырех группах, представляющих больных и здоровых индивидов из двух популяционных выборок, а также охарактеризована роль действия естественного отбора в формировании рассматриваемых фенотипических признаков.

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 транскриптоме децидуальных клеток человека.

Научная новизна

Новизна исследования связана с использованием передовых молекулярно-генетических технологий при изучении экспрессии генов в плаценте. Впервые в мире проведена оценка полнотранскриптомного профиля децидуальных клеток плаценты, а также изучена популяционная

вариабельность транскриптома на уровне отдельных клеток. Несомненной новизной обладает также раздел исследования, связанный с анализом популяционной специфичности генетической архитектуры преэклампсии на уровне транскриптома децидуальных клеток.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Научная значимость полученных результатов заключается, прежде всего, в получении новых фундаментальных знаний о процессах, происходящих на уровне транскриптома децидуальных клеток. В ходе реализации диссертационного исследования впервые получены данные, характеризующие степень межпопуляционной вариабельности транскриптома, а также этническую общность и специфичность транскриптомных профилей децидуальных клеток при преэклампсии и физиологической беременности в популяциях России. Практическая значимость заключается в идентификации потенциальных маркерных молекул, значимых в патогенезе преэклампсии.

Методология и методы диссертационного исследования

В работе использовались современные методы клинической диагностики, высокотехнологичный метод получения децидуальных клеток 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 децидуальных клеток 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 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, проведенного исследования

Достоверность результатов, полученных в настоящем исследовании, не вызывает сомнений и обеспечивается применением современных методов и технологий (лазерная микродиссекция, секвенирование, биоинформатический анализ). Единичные децидуальные клетки получали при лазерной микродиссекции препаратов плацентарной ткани. При получении 1000 изолированных клеток визуально оценивали соответствие их

морфологии и целостности. Эксперименты по анализу уровня экспрессии генов в децидуальных клетках плаценты включали две технические реплики для каждого из полученных образцов. Статистический анализ данных, полученных с помощью полнотранскриптомного анализа профиля экспрессии генов, был проведен с помощью модифицированного t-критерия Стьюдента с поправкой на множественность сравнений по методу Бенджамини-Хохберга (False Discovery Rate – FDR).

Личное участие 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.

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.

Объем и структура 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 и 2 приложения. Работа проиллюстрирована 35 рисунками и 37 таблицами. Библиографический указатель содержит 327 источников, из них 24 отечественных и 303 зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Транскриптомные технологии в изучении генетического разнообразия современных популяций человека

Фенотип человека, как в норме, так и при патологии представляет собой динамическую систему, основа которой описывается взаимосвязью геномных, транскриптомных, эпигенетических, метаболомных факторов в совокупности с влиянием окружающей среды. От типичной последовательности ДНК, кодирующей белок, до ее функционального белкового продукта в клетке задействован целый ряд молекулярных механизмов, однако наиболее фундаментальное значение имеют процессы, происходящие на уровне транскриптома. Понятие «транскриптом» означает полный набор транскриптов, характерный для клетки в определенный момент времени, его понимание необходимо для интерпретации процессов генетической регуляции жизнедеятельности клеток, а также выявления молекулярных путей развития тех или иных функциональных состояний, в том числе и заболеваний. Установлено, что вариабельность в экспрессии генов наблюдается не только на уровне клеток, тканей и отдельных индивидов, но также на уровне популяций. В данный феномен вносят вклад многие факторы, такие как окружающая среда, питание, этническая принадлежность, действие естественного отбора, эпигенетическая регуляция и др. Сравнительные популяционно-генетические исследования расширяют понимание того, как эволюционные силы сформировали генетические и молекулярные механизмы, лежащие в основе сложных признаков, и позволяют выделить популяционно-специфические особенности транскриптомного профиля индивидов, как в норме, так и при патологии [141].

На сегодняшний день разработаны различные технологии для характеристики и количественной оценки полногеномного уровня экспрессии генов, включая подходы на основе гибридизации (микрочипы) или секвенирования. Подходы, основанные на гибридизации, обычно

включают инкубацию флуоресцентно-меченой кДНК с коммерческими микрочипами высокой плотности. Подходы на основе гибридизации являются высокопроизводительными, однако сравнение уровней экспрессии, полученных в разных экспериментах, часто затруднено и может потребовать сложных методов нормализации.

Широкое применение микрочипов для полногеномного анализа генной экспрессии позволило показать, что существует несколько уровней, на которых отмечается наибольшие различия в экспрессии того или иного гена внутри вида: межпопуляционный, межиндивидуальный; внутрииндивидуальный: межтканевой, межклеточный.

Большинство данных, подтверждающих идею межпопуляционных различий в экспрессии генов, получены с использованием лимфобластов [104, 76] и лимфобластных клеточных линий (LCL), использовавшихся в Международном проекте ХарМар [253]. Эти клеточные линии представляют собой биобанк В-лимфоцитов человека, собранных из этнически однородных континентальных популяций: CEU – люди европейского происхождения из Юты, CHB – китайцы, JPT – японцы, YRI – нигерийцы и AA – афроамериканцы [72]. Стоит отметить, что культура клеток является одним из основных инструментов, используемых в клеточной и молекулярной биологии, обеспечивая превосходные модельные системы для изучения нормальной физиологии и биохимии клеток (например, изучение метаболизма, старение). Использование клеточных линий имеет ряд своих преимуществ: на входе не требуется большого количества материала, как правило, используемые культуры имеют четко охарактеризованные свойства, что дает возможность прогнозирования результатов с высокой степенью воспроизводимости. Однако работы с клеточными линиями также имеют и ряд ограничений: доказано, что циклы замораживания и оттаивания приводят к изменению профиля экспрессии в самой клетке, а различные условия культивирования также существенным образом изменяют архитектуру транскриптома.

Первые исследования с использованием материала клеточных субпопуляций были проведены на высокоплотных микрочипах научными группами Барбары Стренджер [253], Джона Стори [250] и Ричарда Спилмена [247]. Авторы сосредоточили свое внимание на поиске генов, изменяющих свою экспрессию среди групп, с использованием материала представителей европейского происхождения (CEU), монголоидной (CHB — китайцы, JPT — японцы) и негроидной расы (YRI).

В исследовании Ричарда Спилмена микрочип на более чем 4000 генов использовался для сравнения экспрессии у европеоидов (60 CEU) и монголоидов (41 CHB и 41 JPT). Было установлено, что более 1000 генов (около 25%) дифференциально экспрессируются между CEU и объединенной группой CHB и JPT, в то время как только 27 генов показали различия между представителями китайцев (CHB) и японцев (JPT) [247]. Еще одна работа на лимфобластах показала, что приблизительно 17% генов изменяют свой уровень экспрессии между европеоидами (CEU) и африканцами (YRI) [250]. Многие из дифференциально экспрессирующихся генов при $FDR < 20\%$, показали связь с иммунным ответом (гены, кодирующие цитокины и хемокины: *CCL22*, *CCL5*, *CCR2*, *CXCR3*). Популяционные различия в экспрессии генов между африканцами и европеоидами дополнительно проанализировали с использованием экспрессионного микрочипа Affymetrix Human Exome, включающего более 9100 транскриптов, на расширенной выборке LCL [322]. Значительную разницу в экспрессии между рассматриваемыми группами показали около 4.2% транскриптов, из них гиперэкспрессирующимися в образцах CEU были 136 генов, а 247 генов показали повышенный уровень экспрессии в образцах YRI. Анализ обогащения ДЭГ продемонстрировал, что данные гены участвуют в процессах сборки рибосомы, антимикробного гуморального ответа, а также межклеточной адгезии, катаболизма мРНК и процессинга тРНК. Стоит отметить, что девять генов (*DPYSL2*, *CTTN*, *PLCG1*, *SS18*, *SH2B3*, *CPNE9*,

СМАН, *CXCR3* и *MRPS7*) ранее уже упоминались как ДЭГ между CEU и YRI [250].

Одно из крупнейших исследований, где вариабельность в экспрессии изучалась в 210 LCL в четырех этнических группах (CEU, CHB, JAP и YRI) с использованием высокоплотного микрочипа Illumina, охватывающего более чем 11 тыс. транскриптов, было проведено научной группой Харриса Фана в 2009 году [85]. Это исследование является попыткой в масштабе генома изучить межиндивидуальные и межпопуляционные различия в экспрессии генов, также установить долю генов, приходящихся на тот или иной вид вариабельности. Авторы заключают, что межиндивидуальная изменчивость является важнейшим компонентом генетических различий в популяции, на ее долю пришлось почти половина (43%) от общей изменчивости в экспрессии генов. Интересно отметить, что данное заключение нашло свое подтверждение в более позднем полнотранскриптомном (RNA-seq) исследовании [120], где вариабельность экспрессии определяли в плацентарной ткани среди четырех популяционных выборок (американцы европейского, южноазиатского, восточноазиатского и африканского происхождения). Так, согласно результатам, 58.9% вариабельности транскриптома определяется различиями между индивидуумами, а на долю межпопуляционных различий приходится в среднем 7.8%.

Примечательно, что в обозначенных исследованиях использовались лимфобластные линии одинаковых популяций, однако показатели вариабельности сильно варьируют от исследования к исследованию (Таблица 1.1). Данный факт может свидетельствовать об ограничениях в использовании клеточных линий в экспериментах с оценкой вариабельности экспрессии из-за компоненты вариабельности, которую привносит выращивание (культивирование) самих клеток. Появление и развитие технологий высокопроизводительного секвенирования (NGS) обеспечило наиболее полный охват генома и позволило исследователям с высокой точностью выявлять основные пути, задействованные в развитии

патологического процесса, устанавливать молекулярные маркеры заболеваний, а также оценивать динамику того или иного состояния [256]. За последние 15 лет полногеномное профилирование генетических вариантов (например, SNP, CNV и локусов количественных признаков (eQTL)) и транскриптов активно использовалось для изучения патогенетики болезней человека в популяциях [32, 147]. Так, Лоренцо Беретта и др. исследовали системную склеродермию в популяциях Южной и Западно-центральной Европы с целью поиска патологических путей аутоиммунного заболевания, а также для выделения тех путей, которые являются общими в географически разных популяциях. Примечательно, что многочисленные работы в области популяционной транскриптомики заболеваний сфокусированы на исследовании онкологических заболеваний [119, 254, 193, 197, 198, 288, 86]. Наиболее частыми объектами интереса для исследователей являются опухоли молочной железы, яичников [288], легких [193, 197], простаты [86], однако до настоящего времени не описано ни одного исследования транскриптома при заболеваниях репродуктивной системы с использованием популяционного подхода анализа.

Таблица 1.1 – Кросс-популяционные исследования экспрессии генов

Популяции	Материал	Вариабельность/ Количество ДЭГ	Метод	Ссылка
80 Афроамериканцы, 94 Европеиды	CD14+ макрофаги	30%	RNA-seq	[199]
CEU (n = 35) and CHB (n = 32)	LCL	189 ДЭГ	HumanHT-12v4 Expression BeadChip	[72]
4 сан, 7 пигмеев мбути, 7 мозамбикцев, 7 патанов, 7 камбоджийцев, 6 якутов, 7 майя	LCL	25%	RNA-seq	[178]

Продолжение таблицы 1.1.

Популяции	Материал	Вариабельность/ Количество ДЭГ	Метод	Ссылка
10 Афроамериканцы, 10 Европеиды, 10 европейские американцы, 10 азиатские американцы	Плацента	33.2% внутрииндивидуальная, 58.9% межиндивидуальная, 7.8% межгрупповая	RNA-seq	[121]
194 индивидов (арабы и амазиги)	Лейкоциты	от 15 до 60%	RNA BeadChip array	[123]
n=79+163 южноевропейцы и n=83+89 центрально-восточные европейцы	цельная кровь	22–24%	RNA-seq	[41]
Европеиды= 211, Афроамериканцы= 112, Восточные азиаты= 78,	моноциты, CD4+ Т- лимфоциты	В CD4+ Т-клетках: 2352 цис-eQTL у EU, 592 цис- eQTL у EA, 722 цис-eQTL у AA В моноцитах: 3090 цис-eQTL у EU, 1181 цис-eQTL у EA, 1318 цис- eQTL у AA	Affymetrix GeneChip Human Gene ST 1.0 microarrays	[219]
Афро-американцы= 48, Европеиды= 23	Лейкоциты	50%	RNAseq	[263]
60 CEU, 41 CHB, 41 JPT	LCL	25%	RNA microarray, genotypes from HapMap	[251]
8 CEU, 8 YRI	LCL	83% межтканевая, 17% межиндивидуальная	RNA microarray, genotypes from HapMap	[250]
60 CEU, 45 CHB, 45 JPT, 60 YRI	LCL	83.6% межиндивидуальная, 17,7% межгрупповая	RNA BeadChip array	[247]
5 Европеиды 2 Восточные азиаты, 3 Нигерийцы	LCL	5-10%	ChIP-seq for TFs	[138]
8 HapMap популяций (CEU: 109, CHB: 80, GIN: 82, JPT: 82, LWK: 82, MEX: 45, MKK: 138, YRI: 108)	LCL	472-947 цис-eQTL	Sentrix Human-6 Expression BeadChip version 2	[252]

Окончание таблицы 1.1.

Популяции	Материал	Вариабельность/ Количество ДЭГ	Метод	Ссылка
100 Европейцев, 100 Африканцев	CD14+ моноциты	50%	RNA-seq	[217]
87 CEU, 89 YRI	LCL	34%	Affymetrix GeneChip Human Exon 1.0 ST Array	[322]
60 Африканцев, 60 Европеоиды, 45 Китайцы, 45 Японцы	LCL	43%	Sentrix Human-6 Expression BeadChip	[85]
10 индивидов Африканцы, 10 - Азиаты, 10 - Европеоиды	кожа	378 ДЭГ	Agilent whole human genome oligo microarrays	[315]
Афроамериканцы n=24, Европейские Американцы n=148	GTEch	47%	RNA-seq	[185]
20 CEU и CHB	LCL	3.2%	RNA-seq	[163]
30 YRI, 30 CEU, 90 CHB, 45 JPT	LCL	205, 192, 193 и 193 цис- eQTL у YRI, CEU, CHB и JPT соответственно	Sentrix Human-6 Expression BeadChip	[318]
5 африканцы, 4 восточные азиаты, 3 европейцы, 2 южных азиат	LCL	32%	10x	[302]

Примечание: в столбце «Вариабельность/ Количество ДЭГ» по умолчанию приведены проценты межпопуляционной вариабельности, если не указан конкретный тип.

За последние несколько лет показано, что популяционные различия, полученные в экспериментах на LCL, также наблюдаются для разных типов тканей и клеток организма [106, 34]. В теле человека представлены различные клетки, которые в течение жизни переходят из одного состояния в другое (рост, дифференцировка, апопоз и т.д), что сопровождается, в свою очередь, изменением их профиля экспрессии. Таким образом, чтобы понять, как организована работа сложных тканей, важно изучить функциональные возможности и реакции отдельного типа клеток [183, 1]. С этой целью были проведены масштабные проекты (FANTOM5, GTEx project) по

секвенированию большого количества образцов тканей и отдельных клеток человека (<https://fantom.gsc.riken.jp/5/>, <https://gtexportal.org/home/>). Однако и данные проекты не в полной мере охватывают современные популяции, ведь в основном в перечисленных биобанках хранятся образцы индивидов европеоидной расы. И хотя первый анализ транскриптома единичной клетки был опубликован в 2009 году [260], однако с тех пор в литературе не описано ни одного популяционного исследования вариабельности транскриптома на уровне отдельных клеток или клеточных субпопуляций из нативных тканей, что определяет высокую степень актуальности работ в данном направлении.

1.2 Краткая характеристика этиологии и патогенеза преэклампсии.

Роль децидуальной ткани в патогенезе преэклампсии

Этиология, патогенез

Согласно Международному классификатору болезней (МКБ) и клиническим рекомендациям от 2021 года, преэклампсия (ПЭ) определяется как осложнение беременности, родов и послеродового периода, характеризующееся повышением после 20-й недели беременности САД > 140 мм рт. ст. и/или ДАД > 90 мм рт. ст. независимо от уровня АД в анамнезе в сочетании с протеинурией (потерей белка > 0.3 г/сутки или > 0.3 г/л в 2-х порциях мочи, взятых с интервалом в 6 часов) или хотя бы одним другим параметром, свидетельствующим о присоединении полиорганной недостаточности [12]. С точки зрения генетики, ПЭ – это заболевание с многофакторной природой. Факторы риска заболевания включают сопутствующие заболевания матери, такие как хроническая болезнь почек, артериальная гипертензия и ожирение; преэклампсии в акушерском и семейном анамнезе, задержки роста плода, выкидыши или многоплодная беременность. В настоящее время возникновение ПЭ можно трактовать с точки зрения как плацентарной, так и материнской дисфункции. В преэклампсию вовлечены различные генетические, ангиогенные, структурные и метаболические пути, в том числе ремоделирование спиральных артерий, плацентарная оксигенация, окислительно-

восстановительная и иммунная толерантность на границе между матерью и плодом, а также баланс ангиогенных и антиангиогенных факторов [66]. Открытие и характеристика новых антиангиогенных путей способствовали углублению понимания патофизиологии ПЭ, однако до настоящего времени не сформировано единого мнения (единой гипотезы) о патогенезе данного акушерского осложнения. Тем не менее, все теории сводятся к функциональным нарушениям в плаценте, что и приводит к развитию эндотелиальной дисфункции.

В норме формирование плаценты (здоровая плацентация) у людей определяется успешным протеканием процессов инвазии клеток трофобласта в плацентарное ложе: интерстициального трофобласта, мигрирующего в строму эндометрия, и эндovasкулярного трофобласта, мигрирующего по просвету сосудов матки. Плацентарное ложе в свою очередь состоит из децидуальной оболочки и внутренней трети миометрия. Инвазия трофобласта происходит в первой половине беременности, что приводит к апоптозу эндотелиальных и гладкомышечных клеток, а также к деградации внеклеточного матрикса в маточных спиральных артериях с отложением фибриноидного материала и включением трофобластов в стенки сосудов. Благодаря этим процессам спиральные артерии из узкого калибра превращаются в крупнокалиберные [124, 55, 212, 48]. Такая цепочка событий является основополагающей в формировании здоровой плаценты и сильно зависит от инвазивного потенциала вневорсинчатых трофобластов, состояния децидуальной оболочки и спирализации артерий.

Считается, что основным патогенетическим звеном ПЭ является недостаточная/неполноценная инвазия в матку клеток эндovasкулярного трофобласта и неполное ремоделирование спиральных артерий во внутренней трети миометрия [12, 212]. Так, структурная недостаточность спиральных артерий препятствует установлению нормального (необходимого) кровотока в межворсинчатом пространстве, что приводит к ишемии плаценты, ее повреждению и нарушению роста плода. Однако

следует отметить, что плацентарные нарушения не являются уникальным звеном патогенеза ПЭ, они также лежат в основе недостаточного роста плода, преждевременных родов, поздних спорадических выкидышей и отслойки плаценты.

Эпидемиология

Гипертензивные расстройства во время беременности возникают в 5-10% наблюдений, являются одной из ведущих причин материнской смертности и в 20-25% случаев – причиной перинатальной смертности. Особое место при этом занимает ПЭ, частота которой во время беременности составляет 2–8%; 10-15% всех случаев материнской смертности связаны с ПЭ или эклампсией, что составляет в мире, по меньшей мере, 70 тыс. смертей в год [170, 99, 14]. По данным Минздрава России, гипертензивные осложнения беременности занимают 4-е место в списке причин материнской смертности за последние десять лет. Частота ПЭ по РФ за 2020 год составила 28.4 – ПЭ средней тяжести и 9.3 – случая тяжелой ПЭ (на 1000 родов) (ЦНИИОИЗ Минздрава России, 2021). Кроме того, сообщается, что существуют расовые и этнические различия в частоте возникновения гипертензивных расстройств во время беременности. По некоторым данным, минимальная частота ПЭ отмечается у представителей монголоидной расы и у латиноамериканских женщин, в то время как европеоиды и негроиды имеют более высокие значения данного показателя (Рисунок 1.1) [101, 98, 299, 170].

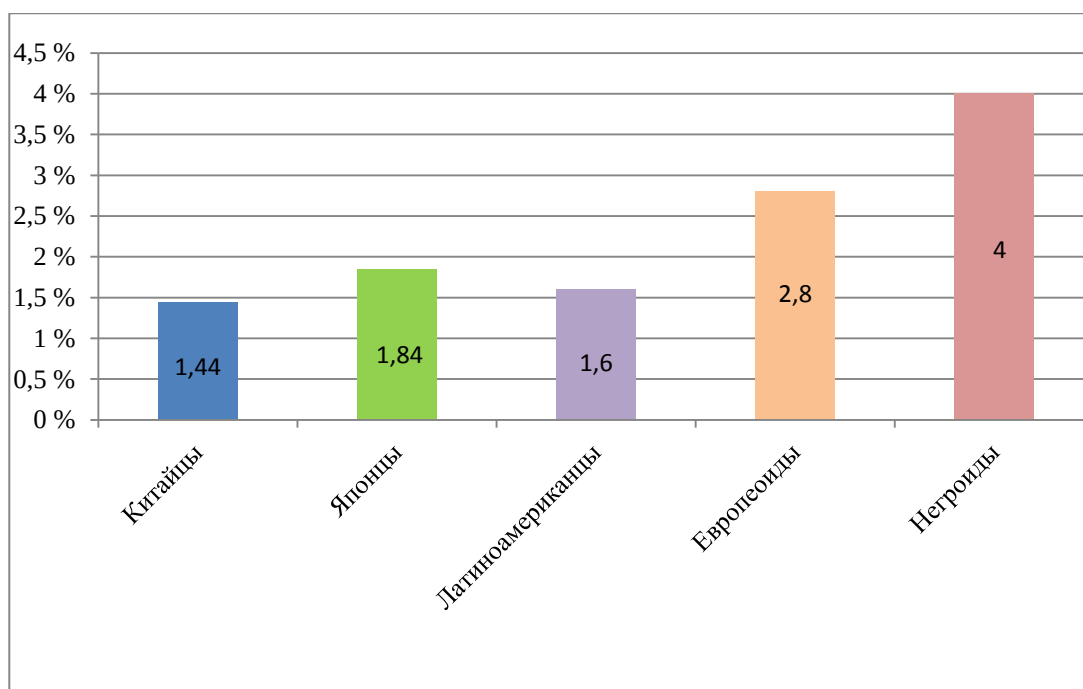


Рисунок 1.1 – Расовые и этнические различия частоты развития ПЭ в современных популяциях человека по данным Goffinet F. et al [101]; Ghosh G. et al [98], Wolf M. et al [299].

Существование таких различий свидетельствует о необходимости исследований в этой области для установления причин, лежащих в основе подобной расовой дифференцировки, а также для определения возможностей ранней диагностики и специфической терапевтической тактики.

Роль децидуальных клеток в патогенезе ПЭ

Децидуальная ткань представляет собой специализированную ткань материнской оболочки плаценты. Она лежит на границе между тканями матери и плода, формируется из нескольких типов клеток, которые образуются в результате дифференцировки, деления и роста клеток-предшественников. Осуществление различных функций, возложенных на децидуальную ткань, возможно лишь при наличии в ней нескольких типов клеточных популяций. На ранних сроках беременности децидуальная оболочка содержит большое количество иммунокомпетентных клеток, а именно: натуральных киллеров (uNK), макрофагов, дендритных клеток и Т-клеток [161]. В дополнение к децидуальным иммунным клеткам, было

показано, что неиммунные децидуальные стромальные клетки составляют более 40% всего клеточного состава децидуальной ткани плаценты [291, 161].

Децидуальные клетки (ДК) – это округлые узкоспециализированные секреторные клетки [206], которые происходят из удлиненных фибробластоподобных стромальных клеток эндометрия в процессе биологической трансформации (децидуализации) под действием прогестерона в секреторной фазе менструального цикла и существуют на всем протяжении беременности. Эти процессы вызывают постепенное изменение профиля экспрессии генов, функций клеток и ремоделирования тканей до полного формирования плаценты [277]. Накопленные данные показывают, что ДК играют важную роль в установлении и поддержании здоровой беременности посредством регуляции процессов имплантации бластоцисты [200, 249], инвазии клеток трофобласта [53, 75], ангиогенеза [171], иммунных реакций на границе матери и плода и поддержания толерантности к развивающемуся организму [149, 134, 118, 172]. В децидуальной оболочке человека различают несколько типов децидуальных стромальных клеток: большие децидуальные клетки (БДК), малые децидуальные клетки (МДК), и гранулярные клетки (ГК). Большие децидуальные клетки – это основной компонент децидуальной оболочки, они являются активно секретирующими клетками. Малые децидуальные клетки – это вытянутые веретенообразные клетки длиной до 15-20 мкм с небольшим плотным ядром и базофильной цитоплазмой. Предполагается, что основная функция этих клеток – синтез межклеточного вещества. Гранулярные клетки характеризуются малым размером (до 15 мкм в диаметре), имеют ядро округлой формы, основная функция этих клеток – иммунорегулирующая [182]. На протяжении беременности доля больших децидуальных клеток, находящихся на стадии терминальной дифференцировки, возрастает, в то время как их способность к делению (пролиферативный потенциал) снижается.

Децидуализация эндометрия и последующие процессы инвазии трофобласта сопровождаются воспалением в результате привлечения в плацентарное ложе большого количества иммунокомпетентных клеток. Такая системная воспалительная реакция характерна для любой беременности, однако в случае осложненной беременности (ПЭ) характерно избыточное воспаление с повышением уровня провоспалительных цитокинов и антиангиогенных факторов, как во внутриутробной среде, так и в материнском эндотелии [189]. На рисунке 1.2 приводится схематическое описание основных патогенетических элементов, которые возникают и регистрируются в ходе развития плацентарной дисфункции при ПЭ.

Модель развития преэклампсии



Рисунок 1.2 – Схематическая модель развития преэклампсии с указанием основных патогенетических звеньев (с изменениями по [66]).

Иммунокомпетентные клетки Th1 и NK-клетки децидуальной оболочки стимулируют воспалительную реакцию за счет активности цитокинов, что приводит к неадекватной инвазии трофобласта и нарушению

ремоделирования спиральных артерий на ранних сроках беременности [68, 221]. Таким образом, снижение маточно-плацентарного кровотока является причиной плацентарной ишемии, которая запускает окислительно-воспалительный каскад и увеличивает продукцию антиангиогенных факторов: растворимой fms-подобной тирозинкиназы 1 (sFlt-1) и растворимого эндоглина (sEng) [15, 16, 5, 21], что в свою очередь приводит к системным осложнениям у матери [39, 92].

1.3 Современные подходы и основные результаты по изучению транскриптомного профиля плаценты человека

Плацента является уникальным органом, который растет и развивается в течение 9 месяцев беременности, выступая в качестве связующего звена между организмами матери и плода. Были проведены многочисленные работы по изучению плацентарного транскриптома, стремящиеся расширить понимание процессов, происходящих во время беременности (Таблица 1.2). Анализ экспрессии плацентарных генов при неосложненной беременности способствует пониманию механизмов нормальной плацентации и раскрытию процессов, благодаря которым плацентарная ткань адаптируется к воздействию различных факторов во время беременности. Однако особую актуальность такие исследования приобретают в контексте изучения различных гестационных осложнений. Анализ транскриптомного профиля плаценты при патологических изменениях, связанных, в том числе с вариабельностью клинических фенотипов, позволит установить биомаркеры и генные мишени для диагностики и прогнозирования исходов беременности. Например, продукты специфических для плаценты генов, которые секретируются в материнский кровоток, могут служить неинвазивным критерием функционального состояния плаценты и косвенным показателем благополучного течения беременности [69]. Кроме того, идентификация дисфункциональных молекулярных процессов, происходящих на границе между тканями матери и плода обеспечивает понимание потенциальных причинно-следственных механизмов, лежащих в

основе патологий плаценты, и может способствовать разработке мер профилактики осложнений беременности.

Таблица 1.2 – Перечень исследований транскриптома плацентарной ткани при неосложненной беременности.

Технология		Образец (ткань)	Количество	Срок	Ссылка
Исследования динамики транскриптома в разные триместры беременности					
1	Микрочипы	Ворсины хориона	12 образцов (4 образца - 1 триместр 4 образца - 2 триместр 4 образца - 3 триместр)	1, 2, 3 триместр	[190]
2	Микрочипы	Ворсины хориона	37 образцов (16 - 1 триместр, 21 - 3 триместр)	1, 3 триместр	[238]
3	RNA-seq	Ворсинки хориона, децидуальная ткань, пуповина	7 образцов (2- 1 триместр, 5 - 2 триместр)	1, 2 триместр	[226]
4	Микрочипы	Биопсия плаценты (базальная пластинка + ворсины хориона)	157 образцов	1, 2, 3 триместр	[154]
5	RNA-seq	Ворсины хориона	9 образцов (4 - 1 триместр, 1 - 2 триместр, 4 - 3 триместр)	1, 2, 3 триместр	[167]
6	Микрочипы	Ворсины хориона	54 образца (42 - 1 триместр, 7 - 2 триместр, 5 - 3 триместр)	1, 2, 3 триместр	[243]
7	Микрочипы	Ворсины хориона	10 образцов (5- 1 триместр, 5- 3 триместр)	1, 3 триместр	[271]
Характеристика клеток, исследование паттернов генной экспрессии					
8	Микрочипы	Децидуальная ткань	11	1 триместр	[110]
9	Микрочипы	Амнион, ворсины хориона, децидуальная оболочка	10	3 триместр	[140]
10	Микрочипы	Ворсины хориона	18	3 триместр	[71]
11	Микрочипы	Децидуальная ткань	Пул тканей	1 триместр	[283]

Продолжение таблицы 1.2.

№	Технология	Образец (ткань)	Количество	Срок	Ссылка
12	Микрочипы	Ворсины хориона	10	1, 3 триместр	[96]
13	Микрочипы	Ворсины хориона	5	1 триместр	[129]
14	Микрочипы	Децидуальная ткань	6	3 триместр	[213]
15	RNA-seq	Ворсины хориона	8	3 триместр	[270]
16	RNA-seq	Децидуальная ткань	5	1 триместр	[93]
17	RNA-seq	Ворсины хориона	8	1, 2 триместр	[169]
18	Микрочипы	Ворсины хориона	11	1, 2 триместр	[243]
19	RNA-seq	Ворсины хориона, децидуальная оболочка	9	1 триместр	[257]
20	RNA-seq	Децидуальная ткань	5	1 триместр	[276]
21	RNA-seq	Ворсины хориона, децидуальная оболочка	7	1 триместр	[276]
22	RNA-seq	Ворсины хориона	8	2, 3 триместр	[281]
23	Микрочипы	Ворсины хориона	48	3 триместр	[272]
24	RNA-seq	Цельная ткань плаценты	10	3 триместр	[188]
25	RNA-seq	Ворсины хориона	40	3 триместр	[120]
26	RNA-seq	Ворсины хориона	16	3 триместр	[51]
27	Микрочипы	Ворсины хориона	8	1 триместр	[273]
28	RNA-seq	Ворсины хориона	80	3 триместр	[74]
29	RNA-seq	Ворсины хориона	39	1 триместр	[103]
30	RNA-seq	Амнион, хорион, базальная пластинка	5	3 триместр	[143]

Окончание таблицы 1.2.

№	Технология	Образец (ткань)	Количество	Срок	Ссылка
31	RNA-seq	Цельная ткань плаценты	20	3 триместр	[228]
32	RNA-seq	Ворсины хориона	159	3 триместр	[209]

На сегодняшний день транскриптом плаценты изучался как на клеточном, так и на тканевом уровнях, но зачастую в рамках узконаправленного анализа. В общем виде исследования плацентарного транскриптома можно разделить на 2 направления – это изучение экспрессионного профиля при неосложненной беременности и изучение генной экспрессии при патологиях беременности, а двумя методами, используемыми для получения полнотранскриптомных профилей плаценты, являются микрочипы и высокопроизводительное секвенирование.

Транскриптомные исследования здорового развития плаценты

Исследования, оценивающие плаценту в норме (Таблица 1.2) преследуют три основные цели: описать изменения транскриптома во время беременности, охарактеризовать клеточные популяции в плаценте или изучить регуляцию и изменчивость экспрессии генов в определенных частях плаценты. В литературе встречаются данные, описывающие плацентарный транскриптом в каждом триместре беременности, делая упор на описание изменений, происходящих по мере развития органа [190, 243]. Результаты исследований транскриптома плаценты первых триместров беременности свидетельствуют о значительном увеличении уровней экспрессии генов, участвующих в клеточной пролиферации и регуляции клеточного цикла [190, 238, 167, 243], что закономерно отражает быстрый рост плаценты на ранних сроках беременности. Некоторые исследования экспрессии генов в плацентарной ткани в третьем триместре беременности в сочетании с гистологическим анализом позволили установить маркеры нормального созревания ворсинок хориона, на основе чего были разработаны методы

расчета молекулярного возраста ткани, что может быть использовано при диагностике нарушений течения беременности [154]. Однако общее количество уникальных транскриптомов относительно невелико, особенно отражающих экспрессионный профиль первого и второго триместров, поэтому дальнейшие исследования в данном направлении будут способствовать накоплению данных и уточнению транскриптомных признаков развития плаценты, характерных для определенного периода гестации. Тем не менее подобные исследования на настоящий момент требуют корректировки деталей эксперимента, ввиду уже имеющихся данных о значительной клеточной гетерогенности плацентарной ткани, а также ткане- и клетко-специфичном характере генной экспрессии. Плацента состоит из множества различных типов клеток. Чтобы улучшить понимание экспрессии генов на клеточном уровне, во многих исследованиях было проведено профилирование изолированных клеток или клеточных культур, характерных для границы раздела тканей материнского организма и тканей плода. Исследования последних лет для получения информации о характере генной экспрессии зачастую используют секвенирование единичных клеток по технологии 10X. Первым таким исследованием явилась работа М. Pavlicev и коллег [207], где они попытались описать межклеточные взаимодействия клеток плода – трофобласта и материнских стромальных клеток эндометрия, оценив экспрессию генов, кодирующих белки пар рецептор-лиганд в разных типах клеток плаценты. В своей работе они делают вывод о том, что децидуальные клетки представляют собой центр межклеточного взаимодействия, а среди передаваемых сигналов преобладают сигналы факторов роста и иммунные сигналы, что может свидетельствовать о поддержании баланса в процессе созревания плода. Стоит также отметить, что авторы сообщают об ограничениях метода 10X при исследовании крупных многоядерных клеток синцитиотрофобласта, так как стандартные протоколы диссоциации приводили к потере части материала и, следовательно, искажению транскриптомного профиля клеток, в связи с чем,

авторами было предложено использование технологии лазерной микродиссекции, чтобы минимизировать возможные ошибки при секвенировании. Недостатки стандартных подходов клеточной диссоциации и следующие после них изменения в транскриптомном профиле также упоминаются в работе Н. Suryawanshi и коллег [257], которые подробно описывают клеточный состав и характер взаимодействий клеток матери и плода в плаценте первого триместра беременности. Тем не менее, имеется также ряд исследований, которые успешно используют стандартные методики и не выявляют проблем с получением материала [270, 169, 276]. Учитывая высокий интерес и важную роль в понимании клеточной коммуникации растущего организма плода и материнского организма, в будущих исследованиях необходимо стремиться к более точному профилированию клеточных популяций, а также учету слабых сторон методик, чтобы обеспечить правильную интерпретацию результатов.

Другая цель анализа транскриптома плаценты при физиологической беременности – выяснить, как регулируется экспрессия генов в разных частях плаценты, а также оценить вариабельность экспрессии внутри ткани и между отдельными индивидами. Так, одно из исследований плаценты третьего триместра показало, что более половины изменчивости экспрессии генов плаценты была связана с различиями между людьми, значительная часть вариаций (около 30%) ассоциирована с внутрииндивидуальными различиями. Предположительно, некоторые из наблюдаемых различий между людьми и между биоптатами тканей одной и той же плаценты возникают из-за клеточной гетерогенности, о чем свидетельствует исследование секвенирования отдельных клеток, показывающее разные клеточные пропорции между повторными образцами, взятыми при биопсии из одной и той же области плаценты [270, 246, 143]. Все это подчеркивает важность выбора области отбора, а также необходимость использования реплик при построении эксперимента с отбором проб в нескольких местах и/или из одной и той же области в каждой плаценте, чтобы отделить

вариабельность, связанную со сбором образцов и истинными внутрииндивидуальными и межиндивидуальными различиями. Эти исследования подчеркивают сложность изучения регуляции экспрессии плацентарных генов, которая может обуславливать большие различия в экспрессии, наблюдаемые между образцами плаценты отдельных индивидов, а также внутри них.

Транскриптомные исследования плаценты при осложнениях беременности

Улучшение понимания патофизиологии осложнений беременности является основной целью при исследовании плацентарного транскриптома. Преэклампсия – серьезное гипертензивное расстройство беременных, является наиболее распространенной патологией, при которой исследовали плацентарную ткань. Учитывая характер преэклампсии, трудности в прогнозировании ее начала и проблемы с забором образцов плаценты во время беременности, большинство исследованных образцов плаценты были собраны в третьем триместре при родах и уже на поздних стадиях заболевания (Таблица 1.3). Тем не менее, существует исследование, в котором материал для анализа представлен 12-ю биоптатами, собранными в первом триместре у контрольной группы и женщин, у которых впоследствии развилась преэклампсия [89]. В этой работе использовали ткань, полученную при заборе образцов ворсин хориона в первом триместре, и продемонстрировали дисрегуляцию плацентарных генов, участвующих в иммуномодуляции, воспалении и миграции клеток, за несколько месяцев до клинических проявлений преэклампсии [89], подчеркнув раннее развитие этого заболевания в плаценте.

Таблица 1.3 – Перечень исследований транскриптома плацентарной ткани при преэклампсии.

№	Технология	Образец (ткань)	Количество	Срок	Особенности	Ссылка
1	Микрочипы	Ворсины хориона	14	3 триместр	ПЭ с ранним и поздним началом и контроль	[202]
2	Микрочипы	Децидуальная ткань	35	3 триместр	ПЭ и ЗРП и контроль	[78]
3	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	10	3 триместр	ПЭ и контроль	[113]
4	Микрочипы	Ворсины хориона	12	1 триместр	Высокий риск ПЭ	[89]
5	Микрочипы	Ворсины хориона	43	3 триместр	ПЭ и контроль	[239]
6	Микрочипы	Decidua	104	3 триместр	ПЭ и ЗРП и контроль	[174]
7	Микрочипы	Базальная пластинка	23	3 триместр	ПЭ против ПР	[298]
8	Микрочипы	Ворсины хориона	24	3 триместр	ПЭ и ЗРП и контроль	[201]
9	Микрочипы	Ворсины хориона	60	3 триместр	ПЭ и контроль	[269]
10	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	15	3 триместр	Ранняя ПЭ против поздней ПЭ	[133]
11	Микрочипы	Ворсины хориона	12	3 триместр	ПЭ и контроль	[186]
12	Микрочипы	Ворсины хориона	9	3 триместр	ПЭ и контроль	[77]

Продолжение таблицы 1.3.

№	Технология	Образец (ткань)	Количество	Срок	Особенности	Ссылка
13	Микрочипы	Ворсины хориона	86	3 триместр	ПЭ и ЗРП и контроль	[109]
14	Микрочипы	Ворсины хориона	16	3 триместр	ПЭ против ПР	[43]
15	Микрочипы	Ворсины хориона	10	3 триместр	ПЭ против ПР	[245]
16	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	12	3 триместр	ПЭ и контроль	[306]
17	Микрочипы	Ворсины хориона	24	3 триместр	ПЭ и контроль	[131]
18	Микрочипы	Ворсины хориона	22	1 триместр	Высокий риск ПЭ	[158]
19	Микрочипы	Ворсины хориона	25	3 триместр	ПЭ и контроль	[166]
20	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	36	3 триместр	ПЭ и контроль	[180]
21	Микрочипы	Децидуальная ткань	125	3 триместр	ПЭ и контроль	[316]
22	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	157	3 триместр	ПЭ и контроль	[154]
23	Микрочипы	Децидуальная ткань	8	3 триместр	ПЭ против ПР	[94]
24	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	8	3 триместр	ПЭ против ПР	[105]
25	Микрочипы	Ворсины хориона	7	3 триместр	ПЭ и контроль	[203]
26	RNA-seq	Ворсины хориона	8	2 и 3 триместр	ПЭ и контроль	[270]

Продолжение таблицы 1.3.

№	Технология	Образец (ткань)	Количество	Срок	Особенности	Ссылка
27	Микрочипы	Базальная пластинка	21	3 триместр	ПЭ и контроль	[268]
28	Микрочипы	Ворсины хориона	17	3 триместр	ПЭ против ПР	[264]
29	Микрочипы	Ворсины хориона	12	3 триместр	ПЭ и контроль	[117]
30	Микрочипы	Ворсины хориона	10	3 триместр	ПЭ и контроль	[326]
31	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	5	3 триместр	ПЭ и ЗРП против контроля	[130]
32	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	36	3 триместр	ПЭ и контроль	[83]
33	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	18	3 триместр	ПЭ и контроль	[114]
34	Микрочипы	Ворсины хориона	26	3 триместр	ПЭ и контроль	[155]
35	Микрочипы	Ворсины хориона	35	3 триместр	ПЭ и контроль	[58]
36	Микрочипы	Цельная ткань плаценты	20	3 триместр	ПЭ и контроль	[136]
37	Микрочипы	Ворсины хориона	12	3 триместр	ПЭ и контроль	[181]
38	RNA-seq	Цельная ткань плаценты	40	3 триместр	ПЭ и контроль	[241]

Окончание таблицы 1.3.

№	Технология	Образец (ткань)	Количество	Срок	Особенности	Ссылка
39	RNA-seq	Ворсины хориона	30	3 триместр	ПЭ и контроль	[157]
40	RNA-seq	Децидуальная ткань	9	3 триместр	ПЭ и контроль	[265]

Наиболее частые нарушения при исследовании плацентарного транскриптома при ПЭ в пограничных тканях организма матери и плода затрагивают процессы регуляции экспрессии генов, участвующих в процессах окислительного стресса и организации воспаления [78, 174, 269, 245, 316, 265]. В совокупности эти исследования подчеркивают, как процессы развития ПЭ влияют на многочисленные молекулярные пути и функции клеток как материнского, так и эмбрионального происхождения, тем самым подчеркивая сложность патофизиологических механизмов заболевания, а также возможность использования мониторинга уровня генной экспрессии идентифицированных дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) в качестве возможных ранних биомаркеров ПЭ. В нескольких исследованиях рассматривалась только ПЭ с ранним началом, развивающаяся до 34 недель беременности [43, 264], или же только образцы плаценты при ПЭ с поздним началом после 34-й недели беременности, или же оба фенотипа ПЭ [202, 239, 133, 166, 265]. Однако в дизайнах подобных экспериментов также имеются ряд сложностей, в частности, при выборе контрольной группы, с которой будут сравниваться полученные результаты профиля плаценты при ПЭ. Так, ряд исследований (около 20%) включал в контрольную группу только образцы при недоношенной беременности на сопоставимых сроках родоразрешения, тогда как большая часть экспериментов в качестве контрольной группы включали

плацентарные образцы при доношенной беременности, или же дополнительно проводили сравнение также при преждевременном родоразрешении. Тем не менее, использование образцов плаценты при недоношенной беременности может вносить дополнительные погрешности, так как с клинической точки зрения большинство подобных случаев являются преждевременными родами – самостоятельной нозологией [69]. Таким образом, в подобных исследованиях по-прежнему нет определенных стандартов, относительно оптимального контроля в случаях преэклампсии, что существенно усложняет анализ и интерпретацию полученных данных.

Перспективы исследований плацентарной ткани

С учетом анализа вышеописанных проблем при изучении транскриптома плацентарной ткани можно обозначить несколько наиболее важных направлений для будущих исследований: решение проблемы клеточной гетерогенности ткани, а также характеристика полного транскриптома, включающего малоизученную область некодирующих белок генов.

Решение проблемы клеточной гетерогенности плаценты

Клеточная гетерогенность плаценты человека, вероятно, является основным фактором, способствующим противоречивым результатам уровней экспрессии генов в различных исследованиях. С появлением методов секвенирования единичных клеток стало возможно проводить деконволюцию транскриптома и выявлять сигналы, полученные от каждой конкретной клеточной единицы, а также шире анализировать полученные различия. Кроме того, подобный подход к анализу плацентарного транскриптома на уровне отдельных клеток позволит селективно выявить именно различия, лежащие в основе патологии.

Исследования некодирующей РНК

Классические исследования в области транскриптомики, как правило, сосредоточены на транскриптах мРНК, кодирующих белок, дисфункция которых может приводить к функциональным изменениям. Однако появляется все больше доказательств, указывающих на важную роль некодирующих РНК (длинных некодирующих РНК, микроРНК) в нормальном развитии плаценты [69]. Согласно литературным данным, изменение уровня экспрессии некодирующих белок РНК было показано при различных осложнениях беременности, таких как ПЭ [108, 157, 326], гестационный сахарный диабет [162, 284], при задержке роста плода [292, 204], а также в случаях преждевременных родов [116]. Таким образом, использование технологий высокопроизводительного секвенирования для идентификации и характеристики роли некодирующих РНК в патогенезе того или иного заболевания является перспективным подходом для дальнейших исследований, особенно в контексте изучения единичных клеточных субпопуляций обеспечивает заманчивой подход к выявлению и разработке новых биомаркеров и терапевтических мишеней для осложнений беременности.

Подводя итог, исследования плацентарного транскриптома представляют огромный потенциал для улучшения понимания здорового развития и функционирования плаценты, 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 физиологической беременности. Также стоит отметить, что на данный момент наиболее изученной частью плаценты являются клетки плода – трофобласт, тогда как материнская часть плаценты – децидуальная оболочка и составляющие ее децидуальные стромальные клетки по-прежнему являются актуальным объектом для исследований. В связи с этим, транскриптомные исследования отдельных, недостаточно изученных

субпопуляций децидуальных клеток при преэклампсии будут способствовать значительному расширению знаний о патогенетике заболевания, а также позволит оценить динамику изменений плацентарного транскриптома по сравнению с физиологической беременностью.

1.4 Роль естественного отбора в формировании заболеваний человека

Понимание того, как естественный отбор сформировал генетическую архитектуру сложных признаков, включая различные многофакторные заболевания человека, имеет большое значение для медицинской и эволюционной генетики. К настоящему времени установлено, что изменение транскрипции генов способствует адаптации к изменчивым условиям и в некоторых случаях может способствовать увеличению восприимчивости к болезням, однако до настоящего времени не обозначены четкие механизмы того, как естественный отбор может влиять на структуру транскриптома отдельных индивидов и вносить свой вклад в формирование патологического фенотипа.

Климатические факторы, такие как высота над уровнем моря, широта, уровни ультрафиолетового излучения, температура, а также диета и патогены, как сообщается, являются факторами, вызывающими адаптацию к сложившейся среде обитания и образу жизни [125]. Изменения, происходящие в окружающей среде, заставляют организмы адаптироваться к новым условиям либо за счет фенотипической пластичности, либо за счет генетических или эпигенетических изменений. «Следы» этих изменений в геноме помогает выявить анализ таких показателей как изменение частот аллелей и гаплотипов, а также оценка снижения или увеличения генетического разнообразия. Показано, что аллели, определяющие признаки, способствующие более успешной адаптации, имеют тенденцию к увеличению частоты в поколениях и фиксируются в популяции, в то время как частота аллелей, определяющих неблагоприятные для адаптации варианты признаков, наоборот снижается, приводя к элиминации

неблагоприятных фенотипов. Однако все больше данных свидетельствует и о возможном отрицательном эффекте некоторых адаптивных изменений в геноме современного человека, который приводит к формированию ряда патологических процессов, таких как аутоиммунные заболевания, аллергии, онкология, артериальная гипертензия, сахарный диабет и др [126, 33]. Вероятное объяснение этому то, что фундаментальные биологические процессы, такие как репликация ДНК, транскрипция и трансляция возникли очень рано, и их адаптация происходила долгое время, в результате чего ранние положительные изменения на сегодняшний момент могут быть дисфункциональными в связи с сильно изменившимися условиями окружающей среды. Таким образом, болезни современного человека зачастую рассматриваются как результат дисбаланса между настоящими условиями обитания и образа жизни и приобретенными адаптивными признаками (изменениями) в геноме человека, а также в масштабах популяционного генофонда [309].

Преэклампсия также нередко рассматривается как заболевание, появившееся в результате адаптивных процессов. В свою очередь, существование расовых и этнических различий в заболеваемости ПЭ можно рассматривать как свидетельство действия естественного отбора. Так, минимальная частота ПЭ наблюдается у монголоидов (китайцы – 1.44%, японцы – 1.84%) и латиноамериканских женщин – 1.6%, в то время как европеоиды и негроиды имеют более высокие значения данного показателя: 2.8% и 4.0% соответственно [262, 98, 196]. Такая картина, вероятно, может быть обусловлена адаптивными изменениями, которые данные популяции приобрели в процессе расселения. Так, одним из вероятных факторов, который может обуславливать такую популяционно-специфичную частоту ПЭ, является высокогорье (высотная гипоксия). Известно, что популяции высокогорных регионов имеют более низкие показатели частоты возникновения гипертензивных расстройств во время беременности, вероятно, вследствие адаптации к гипоксическому воздействию [80, 196,

297]. Также яркими примерами действия отбора, потенциально связанными с развитием патологий беременности, являются широкое распространение инфекционных заболеваний в популяциях, повышение разнообразия пищевого рациона, а также динамические изменения уровней УФ-излучения и концентрации кислорода [224, 127]. Все вышеперечисленные факторы могут выступать как ведущие селективные факторы, влияющие на развитие осложненной беременности у человека. К примеру, физиологическое течение беременности подразумевает иммуносупрессию в материнском организме, что снижает защитные барьеры против инфекций [125]. Подобная высокая восприимчивость к различным инфекционным агентам, в совокупности с увеличенной инфекционной нагрузкой, согласно статистике, приводит к более высокой смертности и заболеваемости в когорте беременных по сравнению с общей статистикой в популяции [80, 50].

Дополнительно в качестве примера роли адаптивной эволюции в формировании патологий беременности можно привести токсикоз беременных, который в последнее время трактуют как адаптивное состояние, закрепившееся в результате действия естественного отбора [123, 214]. Приводятся данные [214], свидетельствующие о более благоприятных исходах, в том случае, если в течение беременности наблюдались симптомы токсикоза, в связи с тем, что тошнота и рвота являются защитными рефлексам, в данном случае необходимыми для защиты развивающегося плода, поскольку ограничивают поступление токсичных веществ через пищу [214, 234]. Следует отметить, что наиболее яркие симптомы токсикоза наблюдаются у беременных на сроках от 6 до 8 недель, когда происходят наиболее важные процессы эмбрионального развития и формирования плаценты [214, 205].

В качестве наиболее общепризнанной эволюционной теории возникновения ПЭ можно привести гипотезу, описанную в работе D. Haig в 1993 г. [111]., в которой говорится о «конфликте интересов» между генами материнского организма и плода. Так, беременность обычно рассматривается

как взаимодействие между матерью и плодом, однако гены плода находятся под отбором для увеличения поступления питательных веществ, а то время как организм матери стремится сохранить свои ресурсы и ограничить рост плода. Предполагается, что гены плода направлены на увеличение потока материнской крови через плаценту за счет повышения артериального давления, в этом ключе ПЭ можно интерпретировать, как попытку плода увеличить запас питательных веществ за счет увеличения периферического кровообращения матери. Такое непрерывное «противостояние» генов, опосредующих разные интересы, в итоге приводит к развитию эндотелиальной дисфункции [111].

Ведущую роль в патогенезе ПЭ играет плацента, в связи с чем, анализ молекулярных процессов, происходящих в плацентарной ткани в контексте эволюционной медицины, расширит понимание причин возникновения данной патологии. Существует гипотеза, согласно которой возникновение осложнений беременности, в основе которых лежит нарушение формирования плацентарных структур, может быть результатом естественного отбора по генам, вовлеченным в процессы регуляции инвазии клеток трофобласта, в то время как нарушение инвазии трофобласта и неполное ремоделирование спиральных артерий рассматриваются как основные факторы в патогенезе ПЭ. Отмечается, что глубокая инвазия трофобласта присуща только млекопитающим с гемохориальным типом плацентации и как следствие обуславливает большую предрасположенность к возникновению ПЭ в данной группе. Возникновению такого высокоинвазивного типа плаценты, согласно предположениям [17], способствовало увеличение объемов головного мозга в связи с развитием когнитивных способностей у людей, для обеспечения которых требовались большие темпы роста, что также требует большого поступления питательных веществ [30, 59].

Таким образом, изучение сложных болезней с многофакторной природой в контексте эволюционной медицины является перспективным

направлением для исследований. Такой подход обеспечит более глубокое понимание патогенетических механизмов, лежащих в основе возникновения заболевания, включая и ПЭ [223,32]. На сегодняшний день, появление высокопроизводительных геномных технологий и развитие персонализированной медицины позволило исследователям прибегать к анализу влияния естественного отбора на транскриптомном уровне, а также выявлять роль эволюционных сил в формировании болезней современного человека [29-33]. Особенно продуктивным этот подход может оказаться в рамках анализа этиологии и патогенеза осложнений беременности, связанных с патологией плацентации.

1.5 Заключение по обзору литературы

Вариабельность экспрессии генов является феноменом, характеризующим связь между генотипом и фенотипическими проявлениями признаков, и вследствие этого, представляющим особый интерес для исследователей. Анализ межиндивидуальной и межпопуляционной вариабельности транскриптома позволяет оценить степень влияния генетических и средовых факторов на формирование геной экспрессии, а также способствует выявлению генов и метаболических путей, на которые могут влиять не-нейтральные силы эволюции, играющие роль в формировании болезней. Несмотря на большое количество работ, посвященных исследованию популяционной вариабельности уровня экспрессии генов, до настоящего времени остаются неизученными в данном контексте заболевания, затрагивающие репродуктивную систему человека. Одной из социально-значимых акушерских патологий является преэклампсия, выступающая причиной высокой материнской и неонатальной смертности, а также заболеваемости в постнатальном периоде. ПЭ имеет многофакторную природу, однако фокус патогенеза, так или иначе, сводится к плаценте и ее структурным элементам. Перспективным объектом для исследований патогенетики плацентарных нарушений является децидуальная

клетка, как подавляющая клеточная субпопуляция в децидуальной оболочке, регулирующая ряд процессов, основополагающих для установления и поддержания беременности, и транскриптомный профиль которой остается малоизученным. Таким образом, настоящая работа сосредоточена на характеристике транскриптома децидуальных клеток плаценты при преэклампсии и физиологической беременности у женщин, принадлежащих разным популяционным выборкам. Такая концепция исследования позволяет не только установить возможные популяционные особенности транскриптомного профиля при физиологическом и патологическом течении беременности, но также привносит новые фундаментальные знания в раскрытие патофизиологических механизмов акушерских осложнений.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

Проведение настоящего исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр» (протокол №4 от 25.11.2019). От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Дизайн работы включал в себя несколько экспериментальных блоков: сбор материала, получение единичных ДК, выделение тотальной РНК, синтез библиотек и секвенирование (Рисунок 2.1). Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ. Сбор образцов двух этнических групп (русские и буряты) проводился в Иркутске и Улан-Удэ. Биоптаты плаценты получали во время родов, после чего ткани промывали в физиологическом растворе, помещали в криопробирки и опускали в сосуды с жидким азотом. Криоконсервированные образцы пересылались в г. Томск, где осуществлялись все последующие этапы эксперимента. Единичные децидуальные клетки были получены с помощью технологии лазерной микродиссекции препаратов тонких срезов, окрашенных гематоксилин-эозином. После была выделена тотальная РНК с помощью набора фирмы Norgen (Канада) из тысячи ДК. Синтез библиотек для полнотранскриптомного анализа проводился набором SMARTer (Takara Bio, США). Далее библиотеки объединяли в пул и выполняли одноконцевое секвенирование на платформе Illumina. Полученные в ходе РНК-секвенирования данные прошли предобработку (выравнивание, фильтрация, нормализация), после чего результаты были проанализированы в соответствии с поставленными задачами. Ниже приводится подробное описание каждого из упомянутых этапов эксперимента.



Рисунок 2.1 – Дизайн исследования.

2.2 Характеристика обследованных групп

Формирование выборок и клиническая характеристика (осмотр, сбор анамнеза, жалоб и параклинических данных) женщин с физиологической беременностью (ФБ) и преэклампсией 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). Группа обследованных состояла из 17 женщин с физиологической беременностью (Русские $n=8$, Бурятки $n=9$) и 11 женщин с тяжелой формой преэклампсии (Русские $n=6$, Бурятки $n=5$). Группы были сопоставимы по основным клиническим и антропометрическим характеристикам (Таблица 2.1). Также не было установлено значимых различий по сопутствующим соматическим заболеваниям (анемии, сердечно-сосудистые заболевания, ожирение, заболевания мочевыделительной системы).

При сборе биологического материала для данного исследования соблюдались строгие критерии включения и исключения. В контрольную группу включались пациентки с физиологическим течением беременности русской и бурятской национальности 18-40 лет, подписавшие информированное согласие на участие в исследовании.

Исключались из группы контроля женщины младше 18 и старше 40 лет, имеющие неблагоприятный соматический и репродуктивный анамнез, патологическое течение настоящей беременности, гиперкоагуляцию, эндокринные, аутоиммунные, инфекционные заболевания, тяжелую сердечно-сосудистую патологию, алкогольную и наркотическую зависимость, хромосомную патологию, а также близкородственные индивиды, принадлежащие к изучаемым популяциям и индивиды, не принадлежащие к изучаемым популяциям. Критерием исключения также служил отказ от подписания информированного добровольного согласия на участие в исследовании.

Таблица 2.1 – Общая характеристика групп исследования.

Характеристика	Русские			Буряты		
	Контроль (N=8)	Преэклампсия (N=6)	p	Контроль (N=9)	Преэклампсия (N=5)	p
Возраст матери, лет	23.5 (21.8;26.8)	22.0 (20.5;30.8)	1.000	29.0 (24.3;32.0)	32.0 (28.8;36.8)	0.254
Срок родоразрешения, недель	40.1 (40.0;40.5)	35.3 (33.3;37.5)	<0.001	40.0 (38.1;40.3)	37.0 (36.2;38.1)	0.019
ИМТ до беременности	25.4 (22.0;28.0)	24.9 (21.2; 25.4)	0.285	21.6 (20.9;26.8)	33.6 (25.1;37.0)	0.028
САД во время беременности, мм. рт. столба	110 (110;120)	167 (160;175)	<0.001	118 (113;120)	150 (120;161)	0.08
ДАД во время беременности, мм. рт. столба	70 (70;80)	99 (93;100)	<0.001	71 (65;76)	89 (80;95)	0.004
Протеинурия, г/л	0 (0;0)	2.27 (1.55;3.00)	<0.001	0.006 (0.00;0.02)	2.54 (2.38;2.70)	<0.001
Пол ребенка	69.2% (Ж)	42.9% (Ж)	0.230	60% (Ж)	40% (Ж)	0.839
Рост ребенка, см	53.0 (52.1;54.5)	47.0 (40.8;48.8)	<0.001	53.3 (52.4;55.3)	49.5 (52.0;54.5)	0.539
Вес ребенка, г	3340 (3210;3735)	1950 (1750;2498)	<0.001	3610 (3490;3750)	3400 (3010;3780)	0.733

Примечание: В таблице для каждого показателя приведены значения медианы и квартилей (Q_{25} и Q_{75} соответственно), а также уровень значимости (p), достигнутый при сравнениях индивидов с ФБ и ПЭ.

Критериями включения в группу пациенток с преэклампсией являлись одноплодная беременность без применения вспомогательных репродуктивных технологий, наличие клинических и лабораторных проявлений преэклампсии, родоразрешение путем операции кесарево сечение на сроке от 24 до 40 недель, возраст пациентки от 18 до 40 лет и подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Исключались из группы пациенток с преэклампсией женщины младше 18 и старше 40 лет, имеющие неблагоприятный акушерский и репродуктивный анамнез, эндокринные, аутоиммунные, инфекционные заболевания, алкогольную и наркотическую зависимость, хромосомную патологию, а также близкородственные индивиды, принадлежащие к изучаемым популяциям и индивиды, не принадлежащие к изучаемым популяциям.

Биобанк тканей: сбор, хранение.

Образцы, используемые в работе, были получены при биопсии плацентарной ткани в макроскопически нормальных областях, исключая участки кровоизлияний, сразу после отделения плаценты согласно протоколу, описанному S. Robson и соавт. [225]. Биоптаты ткани вырезали из материнской части плаценты вблизи пуповины размером 5×5 мм, глубиной около 3 мм. Полученный материал немедленно промывали физиологическим раствором и помещали в криопробирки, которые хранили в жидком азоте, чтобы свести к минимуму деградацию РНК и изменение экспрессии некоторых генов в связи с некрозом/ишемией ткани. Биологический материал был заморожен в жидком азоте и хранился в сосудах Дюара вплоть до исследования.

2.3 Технология получения единичных децидуальных клеток плаценты

Криодиссекция.

Из замороженной плацентарной ткани получали срезы толщиной 7 мкм и помещали их на предварительно охлажденные стекла с мембраной из полиэтиленнафталата (PEN), свободные от РНКаз/ДНКаз («Carl Zeiss», Германия). Готовые стекла со срезами замораживали и оставляли в криостате Thermo Microm HM525 («Thermo Fisher Scientific») до начала окрашивания.

На этом этапе были соблюдены все необходимые условия проведения эксперимента: 1) непосредственно перед процедурой получения срезов спиртосодержащими детергентами тщательно промывали столик криостата, лезвие ножа, патроны для тканей и пинцеты; 2) патроны и пинцеты дополнительно обрабатывали раствором RNaseZap («Thermo Fisher Scientific») и ультрафиолетом для деконтаминации рабочих поверхностей; 3) пинцеты, предметные стекла, фиксирующие и окрашивающие растворы предварительно охлаждали до -30°C – -45°C (для предотвращения оттаивания срезов и деградации РНК в процессе работы с тканью).

Окрашивание.

Для визуализации ткани использовали модифицированную методику окраски гематоксилином-эозином. Готовые замороженные стекла вынимали из криостата и помещали на охлажденный до -30°C элемент, где срезы немедленно фиксировали в 70%-ном этаноле в течение 90 с. Далее стекло однократно промывали в 1 мл деионизованной воды, свободной от РНКаз, ДНКаз и пирогенов, и наносили водный раствор гематоксилина на 90 с, после чего повторяли процедуру промывки. После удаления гематоксилина на срезы наносили водный раствор эозина на 10–12 с, затем стекло быстро промывали этанолом в возрастающей концентрации: 70%→95%→100%.

Окрашенные стекла быстро и тщательно просушивали для предотвращения образования конденсата в процессе их транспортировки и хранения. РНК в зафиксированных таким образом клетках стабильна в

течение 24 ч. Для длительного хранения (до 1 мес) готовые стекла помещали в специальные боксы с силикагелем и хранили при температуре не выше – 70°C [70].

Лазерная микродиссекция.

Процедуру лазерной микродиссекции проводили на приборе PALM MicroBeam UV, оснащенный инвертированным микроскопом Axio Observer Z1 и камерой AxioCam MRm («Carl Zeiss»). В ходе эксперимента проводили диссекцию 1 000 морфологически однородных децидуальных клеток (Рисунок 2.2) в специальных пробирках (см. «Реактивы и оборудование»), предварительно обработанных ультрафиолетом в течение 15 мин, после чего полученный материал лизировали в 100 мкл свежеприготовленного RL-буфера («Norgen Biotek»), содержащего 1 мкл β -меркаптоэтанола. Клеточный лизат тщательно перемешивали и приступали к выделению РНК. Дополнительно стоит отметить, что при диссекции интересующих областей соблюдали рекомендованное [70] ограничение по времени – не более 2 ч на стекло в целях сохранения РНК максимального качества.

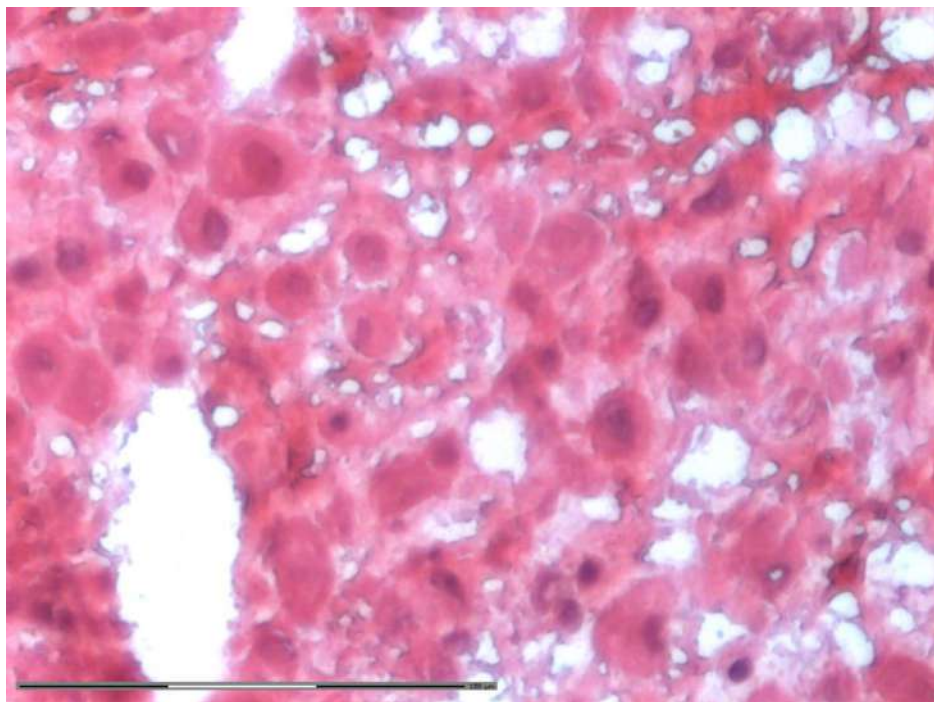


Рисунок 2.2 – Децидуальная ткань плаценты человека, скопление децидуальных клеток (срез). Окраска гематоксилин-эозином; микрофотография, увеличение в 150 раз.

Выделение РНК, контроль качества

Для выделения тотальной РНК использовали набор Single Cell RNA Purification kit («Norgen Biotek»). Вкратце методика выделения РНК, предлагаемая при использовании этого набора, состоит в следующем. Растворенный клеточный лизат, после предварительной инкубации и осаждения 70%-ным этанолом, помещали на колонки. В результате нескольких циклов центрифугирования и отмывки Wash-буфером (входит в набор) на мембране колонки сорбируются нуклеиновые кислоты. Для удаления примесей геномной ДНК через колонку пропускали раствор ДНКазы I, который затем вновь наносили на фильтр колонки и инкубировали, после чего колонку промывали Wash-буфером и элюировали с нее очищенную РНК. Все этапы работы проводили согласно протоколу и рекомендациям производителя с небольшой модификацией: перед процедурой элюирования РНК с колонки на дно пробирки вносили ингибитор РНКаз RiboLock («Thermo Fisher Scientific») в концентрации 20 U в 14 мкл элюирующего буфера. Для оценки качества (RIN) и количества выделенной РНК двухмикролитровую аликвоту полученного элюата анализировали с помощью системы автоматического гель-электрофореза на приборе Bioanalyzer 2100 (Рисунок 2.3).

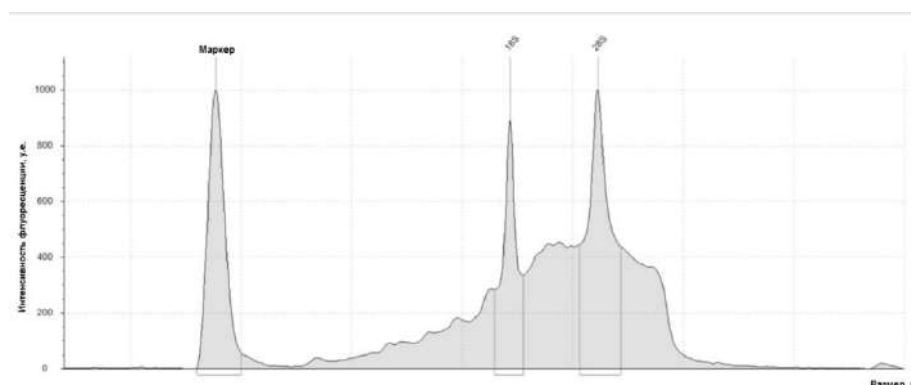


Рисунок 2.3 – Электрофореграмма тотальной РНК, выделенной из децидуальных клеток плаценты. Концентрация РНК в образце – 1.3 нг/мкл, RIN – 6.7. Указаны позиции 18S и 28S рибосомных РНК.

2.4 Молекулярно-генетические методы исследования

Подготовка библиотек

Синтез библиотек для полнотранскриптомного анализа проводился набором SMARTer Stranded Total RNA-Seq kit v2 («Takara BIO»), адаптированного для работы с низкими входными концентрациями. Сразу после получения экстрагированной РНК, не более чем через 1 ч, ее фрагментировали при 82°C в течение 3.5 мин и проводили реакцию обратной транскрипции. Условия фрагментации были подобраны экспериментально, исходя из величины показателя RIN. Синтезированную кДНК хранили при – 20°C в течение двух месяцев. Дальнейшие этапы подготовки библиотек выполняли строго по протоколу производителя с выбором 15 циклов конечной амплификации.

Для возможности анализа как белок-кодирующей, так и некодирующей РНК (то есть общей последовательности РНК) с помощью массового параллельного секвенирования из пикограмм РНК был использован набор SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit — Pico Input Mammalian (Takara BIO, США). В протоколе (Рисунок 2.4) используется технология SMART для сохранения информации об исходной цепи. В то время как олиго(dT) праймирование обычно используется для захвата полиаденилированной мРНК, случайный прайминг позволяет захватывать как кодирующую, так и некодирующую РНК. Использование случайного праймера (обозначен на схеме зеленым праймером N6) позволяет генерировать кДНК из всех фрагментов РНК в образце, включая рРНК. Когда обратная транскриптаза SMARTScribe (RT) достигает 5'-конца фрагмента РНК, терминальная активность полимеразы позволяет присоединить еще несколько нематричных нуклеотидов к 3'-концу кДНК (обозначены крестиками). Адаптер Pico v2 SMART (входит в состав SMART TSO Mix v2) образует пары оснований с нематричными нуклеотидами, создавая расширенную матрицу, позволяющую ферменту продолжать репликацию до конца олигонуклеотида. Таким образом, синтезированная кДНК содержит

последовательности, полученные из случайного праймера и адаптера Pico v2 SMART. На следующем шаге происходит первый раунд ПЦР-амплификации (ПЦР1), где идет присоединение полноразмерных адаптеров Illumina, включая индексы. 5'-праймер для ПЦР связывается с последовательностью адаптера Pico v2 SMART (светло-фиолетовый), а 3'-праймер для ПЦР связывается с последовательностью, связанной со случайным праймером (зеленый). В последующем рибосомальная кДНК (рРНК) расщепляется ZapR v2 в присутствии специфичных для млекопитающих R-Probes v2. Этот процесс оставляет нетронутыми фрагменты библиотеки, происходящие из молекул, отличных от рРНК. Эти фрагменты обогащают с помощью второго раунда ПЦР-амплификации (ПЦР2) с использованием универсальных для всех библиотек праймеров. Готовая библиотека содержит последовательности, позволяющие выполнять секвенирование на любой проточной кювете Illumina.

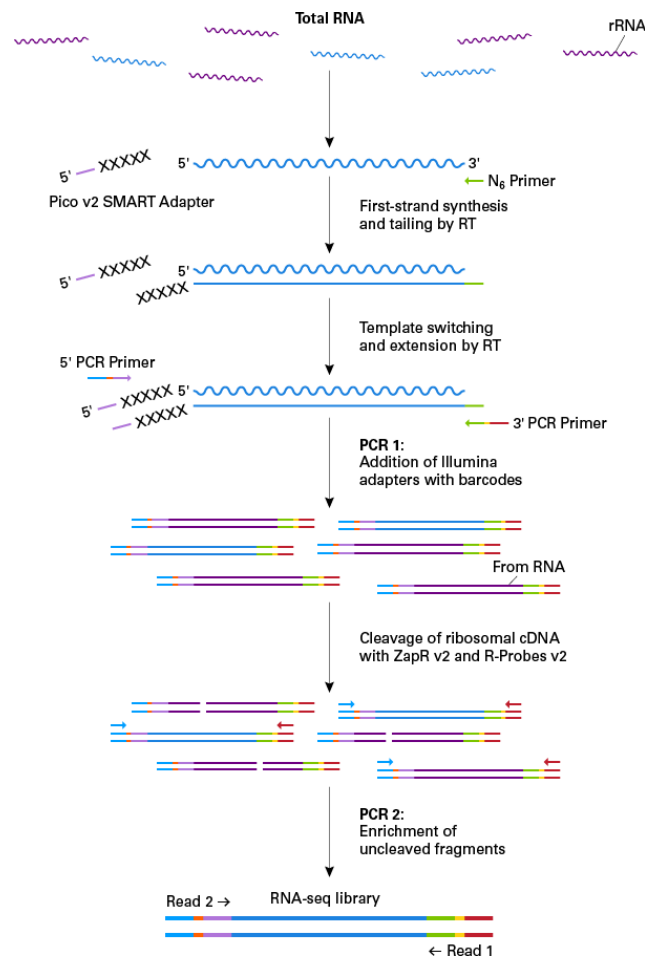


Рисунок 2.4 – Последовательность этапов при синтезе библиотек.

Продукты ПЦР очищали, используя технологию магнитных частиц AMPure XP («Beckman Coulter Inc.», США). Реакционную смесь инкубировали с магнитными частицами – при этом с поверхностью частиц связываются фрагменты ДНК размером более 100 п.о. Пробирки с магнитными частицами помещали на магнитный штатив и дважды промывали свежеприготовленным 80%-ным этанолом. Очищенную библиотеку элюировали с магнитных частиц 15 мкл ТЕ-буфером (входит в комплект набора SMARTer Stranded Total RNA-Seq kit v2), после чего одномикролитровую аликвоту полученного раствора использовали для количественного определения концентрации ДНК с помощью флуориметра Qubit 3.0 («Thermo Fisher Scientific»). Для оценки размера фрагментов библиотеки системой автоматического гель-электрофореза использовали набор High Sensitivity DNA kit для прибора Bioanalyzer 2100 (Рисунок 2.5).

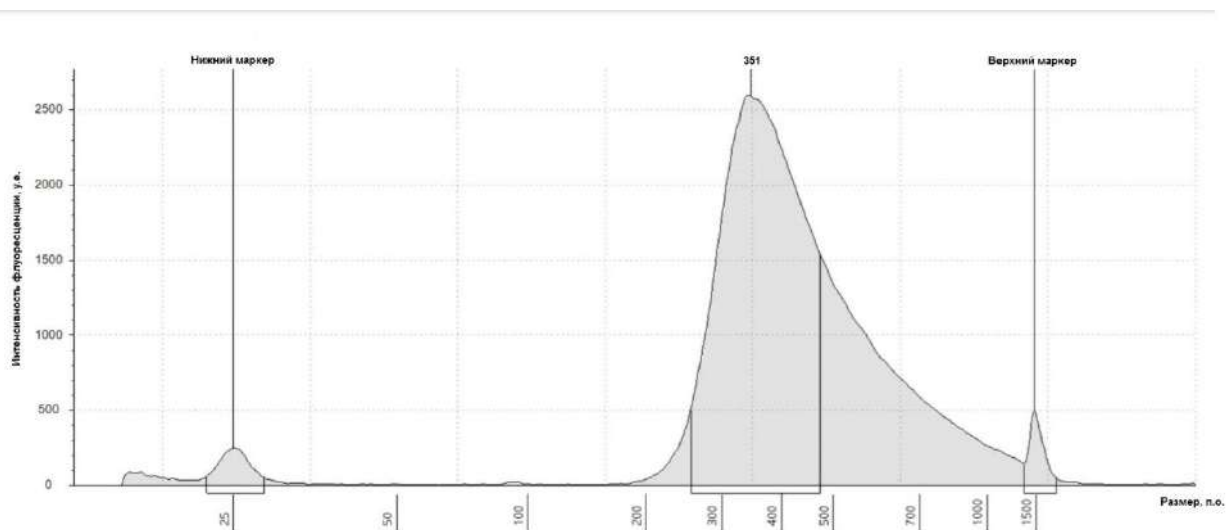


Рисунок 2.5 – Оценка размера библиотеки системой капиллярного гель-электрофореза на приборе Bioanalyzer 2100 с реагентами High Sensitivity DNA kit. Приведенные значения интенсивности флуоресценции нормализованы по стандарту для High Sensitivity DNA kit.

Автоматический гель-электрофорез

Система Agilent 2100 Bioanalyzer – это автоматизированное решение для электрофореза и контроля качества образцов. Система объединяет инструмент, программное обеспечение для обработки данных, реагенты и

микрофлюидный чип, предназначенный для анализа ДНК, РНК и белков. Анализ ДНК (High Sensitivity DNA) часто используется для контроля качества и размера библиотек для секвенирования следующего поколения (NGS). Анализ РНК с помощью данной системы обеспечивает проверку целостности (RIN) и количественный анализ образца перед последующей qПЦР, микроматричным анализом экспрессии и секвенированием транскриптома. Точность обоих видов анализа обеспечивается нормализацией по внутренним маркерам и стандартному образцу в каждом цикле измерения. Анализ проб включает в себя следующие этапы:

1. Подготовка чипа – заполнение каналов микрофлюидного чипа раствором геля, который содержит как просеивающую матрицу, так и флуоресцентный краситель. В каждую лунку вносится буфер, содержащий внутренний маркер лунки и анализируемый образец.
2. Запуск чипа – чип устанавливается в электрофорезную станцию, и при закрытой крышке происходит контакт электродов с раствором в лунках. Напряжение, подаваемое на лунки для образцов, заставляет заряженные молекулы мигрировать в разделительный канал. В разделительном канале раствор геля заставляет молекулы двигаться с разной скоростью, в зависимости от их размера. Во время разделения флуоресцентный краситель интеркалирует между основаниями РНК или ДНК.
3. Обнаружение молекул – когда молекулы мигрируют к концу разделительного канала, лазер возбуждает краситель, заставляя его флуоресцировать, если он связан с фрагментами РНК/ДНК. Фотодиод регистрирует флуоресценцию, а программное обеспечение строит график зависимости интенсивности флуоресценции от времени, создавая электрофореграмму. Виртуальное изображение геля создается на основе данных электрофореграммы.

RNA-Seq

Метод RNA-Seq относится к технологиям массового параллельного секвенирования молекул РНК в составе специальных конструкций – библиотек, представляющих собой преобразованные фрагменты кДНК (100-400 пар нуклеотидов) с прикрепленными к одному или обоим концам адаптерами. Каждую полученную библиотеку секвенируют с высокой пропускной способностью для получения коротких последовательностей с одного конца (одноконцевое секвенирование) или с обоих концов (двухконцевое секвенирование).

В данном эксперименте готовые библиотеки объединяли в пул и выполняли одноконцевое прочтение 75 циклов на платформе Illumina Next-seq 500. Каждая библиотека была получена из индивидуального биоптата плаценты и представляла транскриптом пула 1 000 морфологически однородных децидуальных клеток. Расчетное число прочтений на образец составляло не менее 20 млн. После секвенирования полученные считывания выравниваются с эталонным геномом человека (сборка 38). Количество транскриптов, идентифицированных в каждой библиотеке, определялось количеством транскриптов с CPM (count per million), превышающим или равным 1.

2.5 Статистическая обработка полученных данных

Полученные данные секвенирования выравнивали на hg38-сборку человеческого генома в программе STAR (<https://sites.google.com/site/spiketrainanalysiswithr>), после чего проводили подсчет прочтений, приходящихся на отдельные гены с использованием пакета HTSeq согласно базе данных GENCODE V19 (<https://www.encodegenes.org/human/>) [3]. Аннотация категорий идентифицированных транскриптов осуществлялась с использованием ресурса BioMart.

Дальнейшую обработку для поиска генов, изменяющих экспрессию в группах, проводили в программной среде R с использованием пакета DESeq2. Здесь мы выполняли минимальную предварительную фильтрацию, чтобы оставить только строки/транскрипты, которые имеют не менее 10 прочтений. Далее идет расчет общей линейной модели (GLM) для каждого гена и тестирование ее на правдоподобность. Для каждого дифференциально экспрессирующегося гена приводятся $\log_2$ (logFC), логарифм соотношения правдоподобия (LR), уровень значимости (p-value), скорректированный уровень значимости (FDR). Сравнение уровней экспрессии генов проводилось в группах здоровых русских против русских с ПЭ, здоровых бурят против бурят с ПЭ, а также популяционные сравнения отдельных групп здоровых и больных русских и бурят. Статистически значимыми считались различия в уровнях нормализованной экспрессии с достигнутым уровнем значимости $p < 0.01$ [38].

Для визуальной оценки графического представления полученных данных использовались двумерные графики кластеризации, построенные с использованием расчета геометрических (евклидовых) расстояний между образцами, рассчитанные на основании исходного массива данных. Для построения дендрограмм иерархической кластеризации использовался метод средней связи.

Функциональная аннотация категорий и биологических путей, в которые вовлечены найденные гены, проводилась с использованием инструмента «WEB-based GENE SeT AnaLysis Toolkit», доступного онлайн (URL: <http://www.webgestalt.org/>) [324, 285]. Категории описываемых генов соответствовали классификаторам баз данных «Gene Ontology» (URL: <http://geneontology.org>). Построение сетей белок-белковых взаимодействий продуктов идентифицированных ДЭГ осуществляли с помощью онлайн ресурсов STRING (URL: <https://string-db.org/>) и GeneMania (URL: <https://genemania.org/>).

При решении третьей задачи для оценки распределения вариабельности проведен дисперсионный анализ (ANOVA) по каждому гену, и для получения оценок распределения использовались два компонента данных – аддитивные компоненты дисперсий и оценки сумм квадратов (подробное описание моделей см. D.A. Hughes et al., 2015 [120]). При расчете внутри-, межиндивидуальной и межгрупповой вариабельности транскриптомных данных была применена линейная модель, в которой общий уровень экспрессии складывался из суммы главных факторов – группового (A – информация о популяционной принадлежности) и индивидуального (B – информация об образце), а также суммы технических переменных, содержащих информацию о RIN образцов, сведения о репликатах (e), даты синтеза библиотек и секвенирования.

В анализ были введены следующие коэффициенты: Mst, Met и Mit, полученные с помощью аддитивной составляющей дисперсии. Предполагается, что эффекты среди групп (A), между индивидуумов (B) и от репликатов (e) являются случайными и описываются дисперсией σA^2 , σB^2 и σ^2 соответственно. Общая дисперсия в экспрессии гена может быть описана как $\sigma^2 T = \sigma A^2 + \sigma B^2 + \sigma^2$. Суммируя величину групповой дисперсии $\sigma A^2 / \sigma^2 T$, можно определить коэффициент корреляции как Mst. Введенные коэффициенты Met и Mit отражают внутрииндивидуальную ($Met = \sigma^2 / \sigma^2 T$) и межиндивидуальную дисперсию ($Mit = \sigma B^2 / \sigma^2 T$).

В основе второй модели лежал расчет отношений суммы квадратов главных факторов (коэффициенты N*t) – группового (A), индивидуального (B) и внутрииндивидуального (e). Общая вариабельность для транскрипта при каждом из подходов была разложена по трем коэффициентам, характеризующим внутрииндивидуальную (Met и Net), межиндивидуальную (Mit и Nit) и межгрупповую (Mst и Nst) компоненту дисперсии (краткая характеристика коэффициентов дана в Таблице 2.2).

Таблица 2.2 – Краткая характеристика коэффициентов вариабельности

Коэффициент	Формула	Значение
Mst	$\sigma^2 A / \sigma^2 T$	коэффициент групповой дисперсии
Mit	$\sigma B2 / \sigma^2 T$	коэффициент межиндивидуальной дисперсии
Met	$\sigma^2 / \sigma^2 T$	коэффициент внутрииндивидуальной дисперсии
Nst	SS_A / SS_T	коэффициент групповой вариабельности
Nit	SS_B / SS_T	коэффициент межиндивидуальной вариабельности
Net	SS_e / SS_T	коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности

Определение генов, находящихся под действием того или иного вида отбора, также основывалось на расчете коэффициентов вариабельности. После проведения стандартного пермутационного теста (оценка 100 случайных генов, при случайной перестановке образцов, 1000 раз) и на основании полученных коэффициентов мы рассчитали пороги 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 были отобраны те случаи, при которых доля вариабельности среди индивидов была больше, чем доля 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 были приняты первый и 99-й перцентили от стандартного отклонения фактора индивидуальной вариабельности (SS_B).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Поиск дифференциально экспрессирующихся генов децидуальных клеток при преэклампсии и физиологической беременности

В рамках данной работы было получено 56 транскриптомов от 28 уникальных образцов. После выравнивания на геном человека среднее покрытие на образец составило 13 млн. прочтений. Всего в анализ было включено 16636 транскриптов с CPM (count per million – количество прочтений транскрипта в миллионе прочтений) > 1 . Аннотация идентифицированных транскриптов свидетельствует о том, что в полученных сиквенсах 79% пришлось на белок-кодирующие участки генома, около 21% относились к категориям некодирующих последовательностей, псевдогенов, а также транскриптов с еще не установленной функцией (Таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Аннотация транскриптов, полученных в результате RNA-seq

Идентифицированные транскрипты (категории GENCODE)	Количество транскриптов
Белок-кодирующие (protein_coding)	13248
Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	2205
Процессированные псевдогены (processed_pseudogene)	458
Транскрибируемые непроцессированные псевдогены (transcribed_unprocessed_pseudogene)	237
Транскрипты с не установленной функцией (TEC)	119
Непроцессированные псевдогены (unprocessed_pseudogene)	73
Неидентифицированная РНК (misc_RNA)	48
Транскрибируемые процессированные псевдогены (transcribed_processed_pseudogene)	85
Малые ядерные РНК (snRNA)	23
МикроРНК (miRNA)	8
Малые ядрышковые РНК (snoRNA)	53
Транскрибируемые унитарные псевдогены (transcribed_unitary_pseudogene)	36
Инактивированные гены рРНК (rRNA_pseudogene)	17
Унитарные псевдогены (unitary_pseudogene)	2

Продолжение таблицы 3.1.

Идентифицированные транскрипты (категории GENCODE)	Количество транскриптов
Митохондриальная тРНК (Mt_tRNA)	11
Гены варибельной цепи Т-клеточного рецептора (TR_V_gene)	2
Гены варибельной цепи иммуноглобулина (IG_C_gene)	3
рРНК (rRNA)	3
Инактивированный ген иммуноглобулина (IG_C/V_pseudogene)	1
Митохондриальная рРНК (Mt_rRNA)	2
Транслированные процессированные псевдогены (translated_processed_pseudogene)	1
Транслированные непроцессированные псевдогены (translated_unprocessed_pseudogene)	1

На первом этапе были проведены сравнения в группах русских и бурятских женщин с целью поиска дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) в транскриптоме децидуальных клеток при физиологической беременности и преэклампсии (Рисунок 3.1).

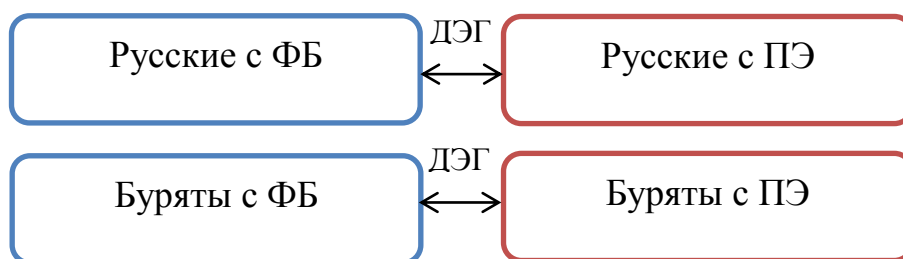


Рисунок 3.1 – Дизайн сравнения групп для поиска ДЭГ между группами больных и пациентов с ПЭ.

Анализ дифференциальной экспрессии генов в обследованных группах позволил выявить 298 ДЭГ для русских и 536 ДЭГ для бурят ($p < 0.01$; $FC > 2$). При введении поправки на множественность сравнений (FDR) порог в 5% преодолели 2 транскрипта у русских (*PEPD*, *FABP5*) и 79 транскриптов у бурят, поэтому, чтобы не упустить потенциально важные гены и шире обсудить их предполагаемую роль в развитии заболевания в последующем анализе FDR не учитывался. Таким образом, при характеристике

популяционной общности и специфичности в работе использовались следующие критерии для определения дифференциальной экспрессии: $p < 0.01$; кратность изменений экспрессии $FC > 2$. Для детальной оценки популяционной общности и специфичности генов, связанных с болезнью, был проведен подробный анализ ДЭГ отдельно для каждой из популяций.

3.1.1 Анализ дифференциально экспрессирующихся генов при физиологической беременности и преэклампсии у русских индивидов

С использованием пакета DESeq2 и при условии фильтрации не менее 10 копий транскрипта минимум в 30% всех образцов было выявлено 298 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) между группами русских женщин с физиологическим и патологическим течением беременности (Рисунок 3.2).

Представленная теплокарта отражает уровень экспрессии ($\log_2(\text{CPM})$) дифференциально экспрессирующихся транскриптов в группах русских. Можно наблюдать, в целом, относительно четкую картину кластеризации образцов по блокам, кроме того, видно примерно равное соотношение гипо- и гиперэкспрессирующихся генов в изученных образцах. Так, гиперэкспрессия у русских индивидов с ПЭ была характерна для 164 генов из 298 ДЭГ. В таблице 3.2 представлена краткая характеристика 20-ти генов с минимальными и максимальными значениями кратности изменения экспрессии. Большая часть этих генов относилась к категории некодирующих РНК и псевдогенов (*RNU6-6P*, *MT-TS2*, *RNU5B-1*, *AC074135*, *VTRNA1-1*, *RNA5SP336*) и лишь 4 транскрипта кодировали белки (*NSFP1*, *CTSW*, *CPEB1*, *NCAM1*). Гипоэкспрессия в образцах русских с ПЭ была показана для 134 генов из списка ДЭГ.

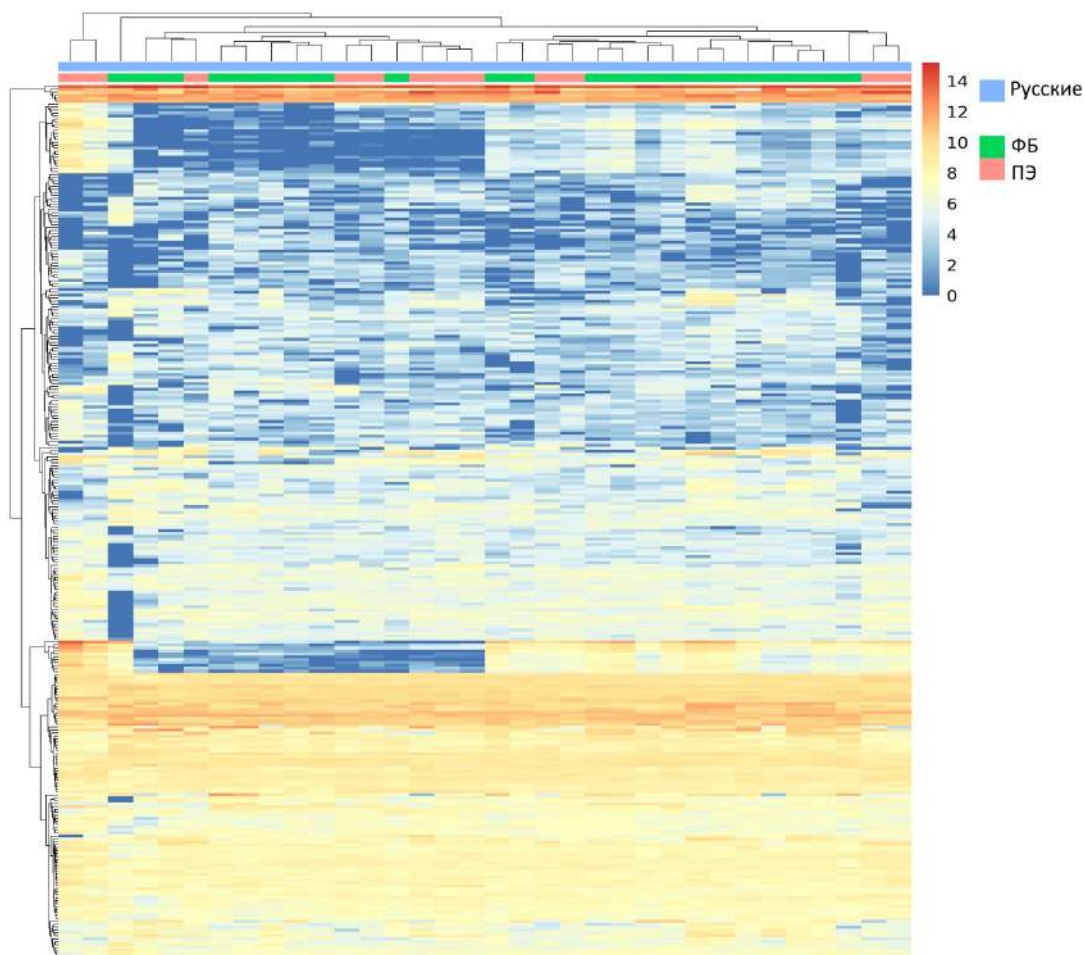


Рисунок 3.2 – Теплокарта 298 ДЭГ для групп русских с физиологической беременностью и преэклампсией. Зеленая маркировка столбцов присвоена образцам с ФБ, розовая маркировка столбцов присвоена образцам из группы с ПЭ.

К транскриптам, с максимальными коэффициентами различий для групп контроля и ПЭ относятся 2 транскрипта некодирующих РНК (*AL117329.1* и *AC073367.1*), а также белок-кодирующих генов (*KRT5*, *FABP5*, *KCNT2*, *PCDH7*, *FABP7*, *KCNN2*, *SDR42E1*, *CAPNS2*). Можно отметить, что гипозэкспрессия при ПЭ была характерна, в основном, для белок-кодирующих генов, тогда как если рассматривать категории гиперэкспрессирующихся транскриптов, то можно заметить тенденцию к снижению количества белок-кодирующих генов, увеличению количества днРНК, а также появление новых категорий РНК, которые не были представлены в кластере гипозэкспрессирующихся генов (Рисунок 3.3).

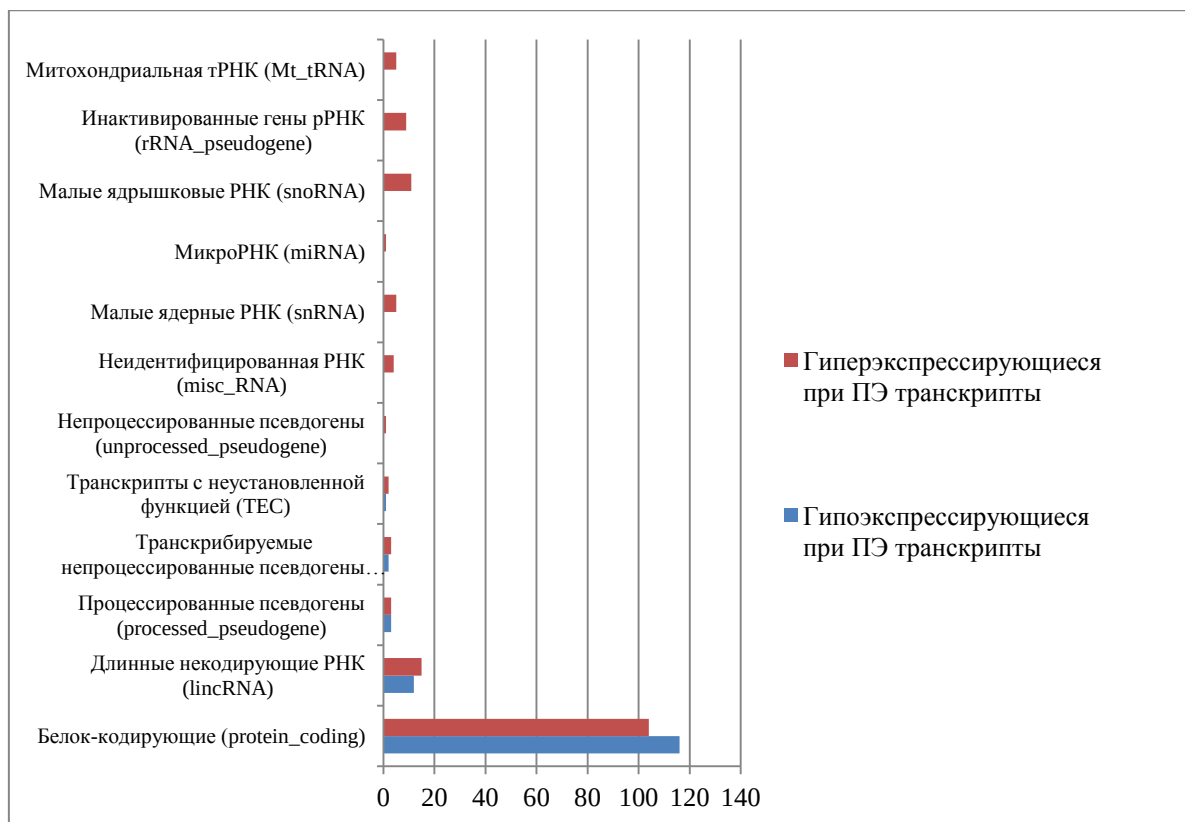


Рисунок 3.3 – Категории транскриптов ДЭГ гипо- и гиперэкспрессирующиеся при ПЭ у русских.

Таблица 3.2 – Краткая характеристика 10 гипо- и 10 гиперэкспрессирующихся ДЭГ у русских при ПЭ.

Наиболее гипоэкспрессирующиеся ДЭГ у русских при ПЭ (ТОП-10)				
Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	P-уровень
<i>EPIC1</i>	22	индуцированный МЫС, взаимодействующий с днРНК 1	5.114	<0.0001
<i>KRT5</i>	12	Кератин 5	4.285	<0.0001
<i>ENSG00000286044.1</i>	11	Новый транскрипт	3.457	0.004
<i>FABP5</i>	8	белок, связывающий жирные кислоты 5	3.445	<0.0001
<i>AC073367</i>	10	Новый транскрипт	3.341	0.001
<i>KCNT2</i>	1	член 2 подсемейства калий-натриевых каналов	3.279	0.003
<i>PCDH7</i>	4	протокадгерин 7	3.260	<0.0001
<i>FABP7</i>	6	белок, связывающий жирные кислоты 7	3.179	0.008
<i>KCNN2</i>	5	2 член подсемейства калий-кальциевых каналов	3.123	0.001
<i>SDR42E1</i>	16	Семейство короткоцепочечных дегидрогеназ/редуктаз 42Е, член 1	3.039	0.002
<i>CAPNS2</i>	16	малая субъединица кальпаина 2	2.966	<0.0001

Продолжение таблицы 3.2.

Наиболее гиперэкспрессирующиеся ДЭГ у русских при ПЭ (ТОП-10)				
Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	Р-уровень
<i>NCAM1</i>	11	молекула адгезии нервных клеток 1	-3.449	<0.0001
<i>RNU6-6P</i>	10	РНК, малый ядерный 6 U6, псевдоген	-2.662	0.009
<i>CPEB1</i>	15	цитоплазматический элемент полиаденилирования, связывающий белок 1	-2.614	0.007
<i>ENSG00000172543.9</i>	9	Новый транскрипт	-2.498	0.001
<i>RNA5SP336</i>	11	РНК, 5S рибосомный псевдоген 336	-2.471	<0.0001
<i>CTSW</i>	11	катепсин W	-2.445	0.003
<i>VTRNA1-1</i>	5	Депонированная РНК 1-1	-2.368	<0.0001
<i>AC074135</i>	7	РНК, Ro-ассоциированный Y5	-2.347	0.008
<i>ENSG00000210184.1</i>	19	Новый транскрипт	-2.330	0.004
<i>RNU5B-1</i>	15	РНК, малая ядерная U5B 1	-2.325	<0.0001
<i>MT-TS2</i>	MT	митохондриально кодируемая тРНК-Ser	-2.315	<0.0001
<i>NSFP1</i>	17	N-этилмалеимид-чувствительный фактор псевдоген 1	-2.255	0.002

В отдельности для наиболее гипо- и гиперэкспрессирующихся генов не удалось установить их связи с ПЭ, однако результаты поиска по базе данных «DisGeNet» позволили установить участие этих генов преимущественно в заболеваниях кожи и ногтей (C3814530, C3279575, C3279601, C0854107, C0263537, C1969913, C0423820).

Чтобы дополнительно функционально охарактеризовать изменения в транскриптомном профиле, связанные с ПЭ, была проведена аннотация биологических путей, характерных для дифференциально экспрессирующихся генов. Установлено, что различия в профиле экспрессии среди русских индивидов с ФБ и ПЭ наблюдались в таких биологических путях, как метаболические и катаболические процессы глицеридов и жирных кислот, а также процессы поляризации клеточных мембран (Таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Аннотация ДЭГ для групп русских с ФБ и ПЭ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	p-value	FDR
GO:0019433	катаболизм триглицеридов	32	4	<0.0001	1.000
GO:1901570	биосинтез производных жирных кислот	88	6	<0.0001	1.000
GO:0046503	катаболизм глицеролипидов	59	5	0.001	1.000
GO:0046461	катаболизм нейтральных липидов	39	4	0.001	1.000
GO:0046464	катаболизм ацилглицерина	39	4	0.001	1.000
GO:0086009	реполяризация мембраны	44	4	0.001	1.000
GO:0046456	биосинтез икозаноидов	46	4	0.002	1,000
GO:0006639	метаболизм ацилглицерина	119	6	0.002	1.000
GO:0006638	метаболизм нейтральных жиров	120	6	0.002	1.000
GO:0086002	потенциал действия кардиомиоцитов	51	4	0.002	1.000

Установлено, что изменения в транскрипционном профиле, связанные с патологическим процессом при ПЭ в децидуальных клетках у русских, находят отражение в процессах метаболизма и активности молекул-производных жирных кислот и поляризации мембраны. Калий, как основной элемент, участвующий в процессе поляризации мембраны, в организме беременной принимает участие в транспортировке питательных веществ к клеткам, а также активно влияет на прохождение нервного импульса, синтез гликогена и белков, кислотно-щелочное равновесие, помимо этого, калий является регулятором водно-солевого обмена, так как снижение реабсорбции калия способствует выведению воды из организма. В свою очередь 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 более высокая средняя концентрация триглицеридов и сниженный уровень холестерина и липопротеинов высокой плотности. Подчеркивается, что такой «атерогенный» липидный профиль у женщин с ПЭ может быть потенциальным фактором дисфункции эндотелиальных клеток [23, 37].

Сетевой анализ кластера ДЭГ для русских женщин свидетельствует о том, что 41.3% генов из списка (123 гена) находятся во взаимодействии (Рисунок 3.4). Центральными генами для данной сети выступили ген коллагена 1 типа *COL5A1* (ранг=1) и ген рецепторного белка трансформирующего фактора роста *TGFB1* (ранг=2) (Рисунок 3.5). Возможная схема участия установленных генов в патогенетическом пути развития ПЭ представлена на Рисунке 3.6.

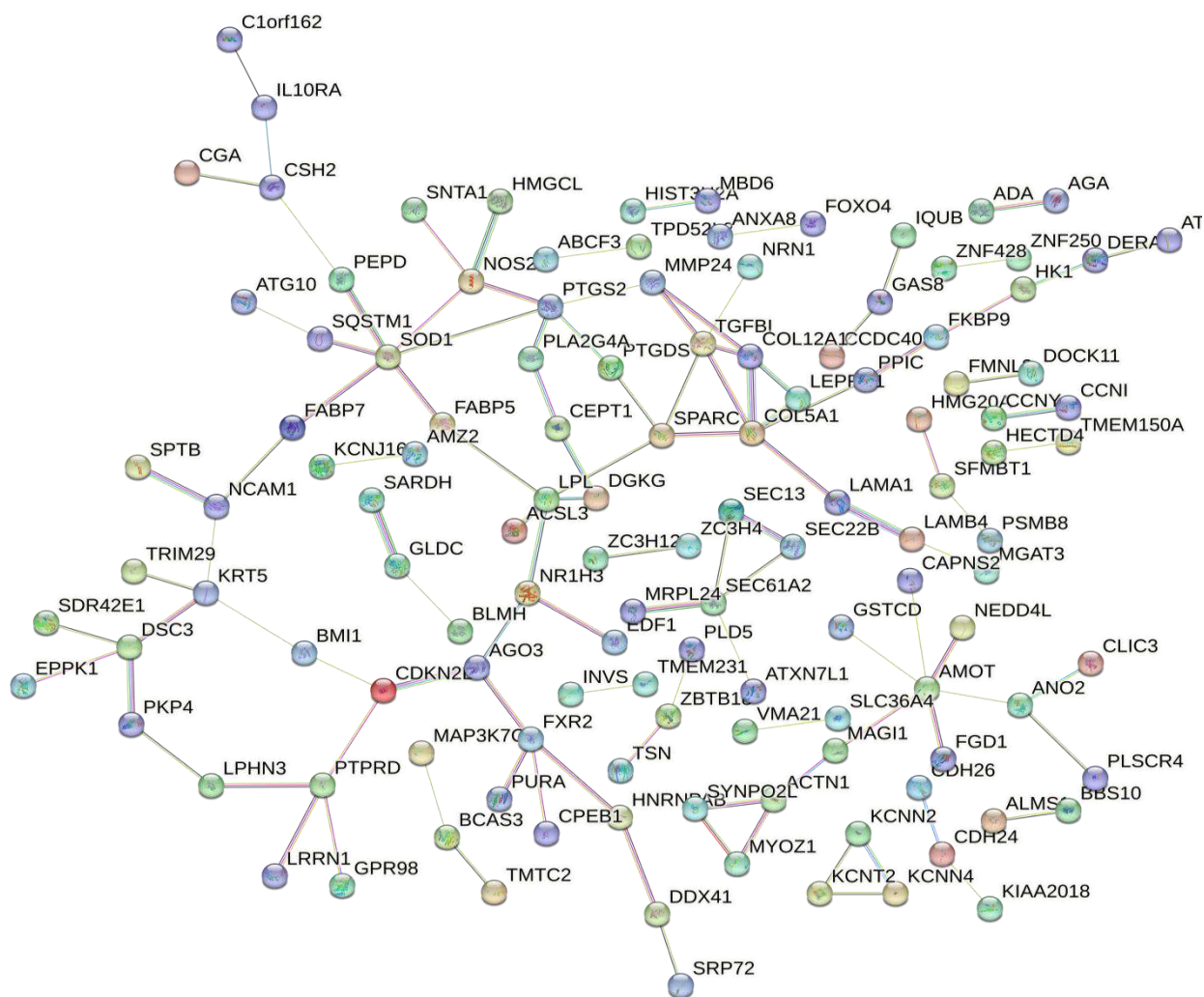


Рисунок 3.4 – Сеть белок-белковых взаимодействий ДЭГ при сравнении групп русских женщин с ФБ и ПЭ.

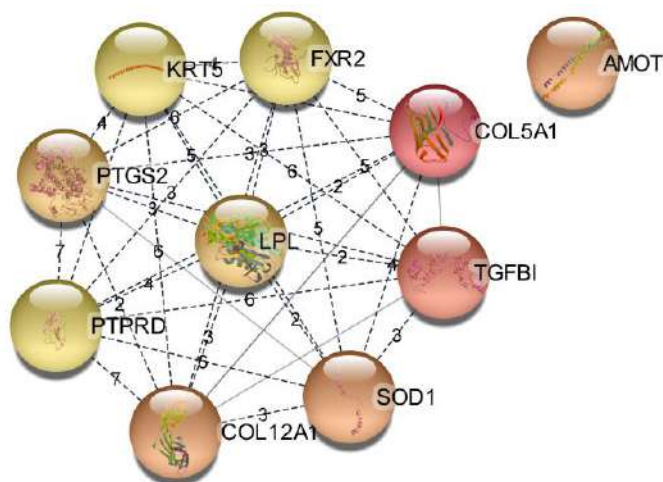


Рисунок 3.5 – Кластер генов с наибольшей силой связи (hub genes) для сети белок-белковых взаимодействий ДЭГ при сравнении русских женщин с ФБ и ПЭ.

Показано, что для гена коллагена V типа характерно гипометилирование в плаценте больных ПЭ, по сравнению с контрольной группой [29, 178], что будет приводить к повышенной экспрессии данного гена. Сам ген коллагена обладает способностью избирательно образовывать комплексы с тромбоспондином, что ведет к нарушению процессов ангиогенеза, роста сосудов и в результате будет приводить к развитию эндотелиальной дисфункции и манифестации ПЭ. В свою очередь, *TGFB* регулирует различные клеточные функции, включая клеточную пролиферацию, дифференцировку, апоптоз, миграцию/инвазию, синтез матрикса и иммунный ответ [33]. В децидуальной оболочке подавляющей субпопуляцией иммунных клеток, которые регулируют все процессы роста и дифференцировки, являются dNK. Для *TGFB* было показано, что повышенный уровень *TGFB1* в децидуальной оболочке может избирательно подавлять активацию субпопуляций децидуальных NK-клеток, что может привести к несбалансированному маточно-плацентарному иммунному ответу и способствовать возникновению преэклампсии [151].

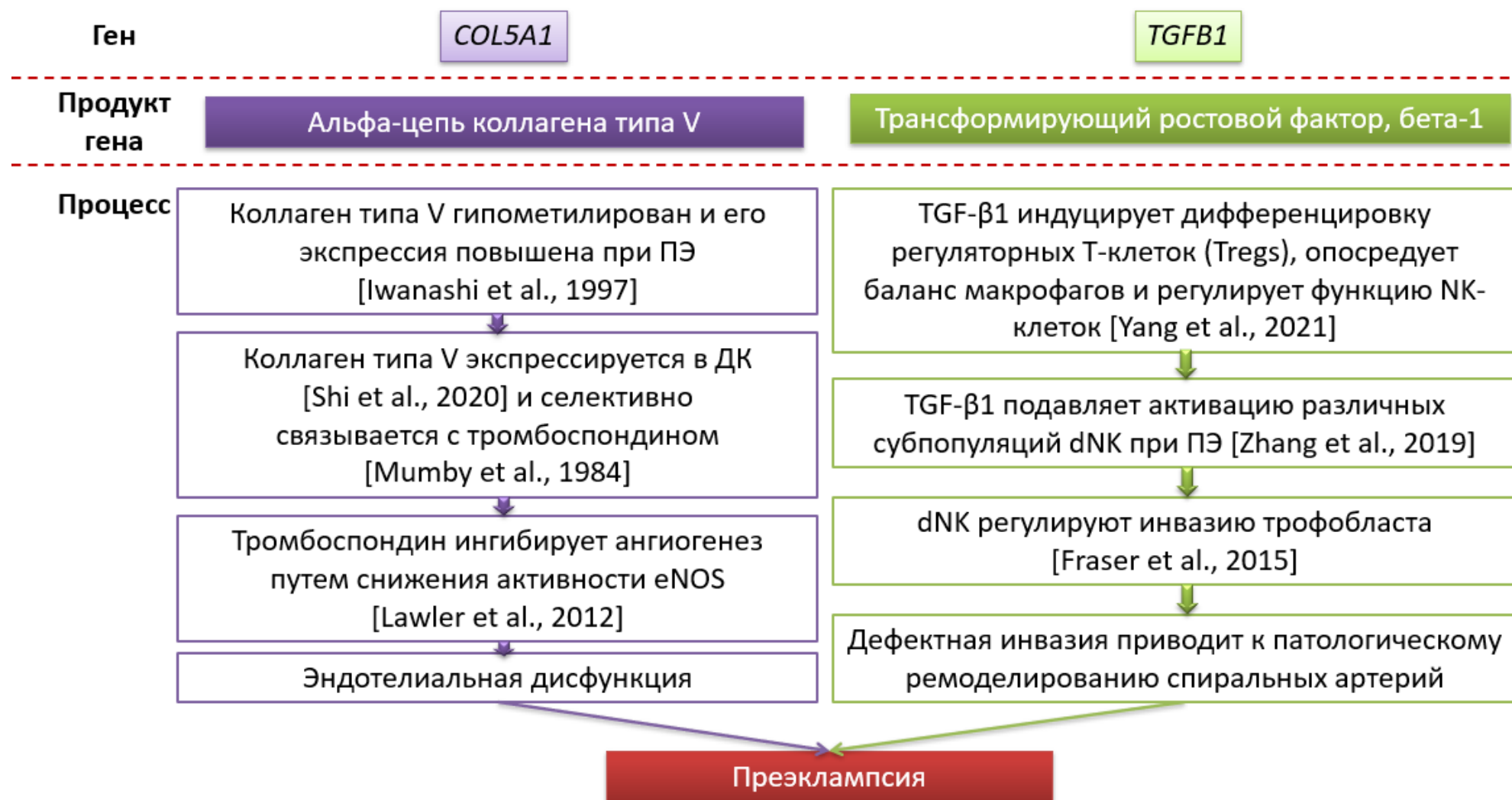


Рисунок 3.6 – Схема предполагаемого участия главных генов (*COL5A1* и *TGFB1*) в развитии ПЭ.

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

При сравнении уровней экспрессии транскриптов в децидуальных клетках у бурят при ФБ и ПЭ было выявлено 536 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) (контроль против ПЭ, Рисунок 3.7).

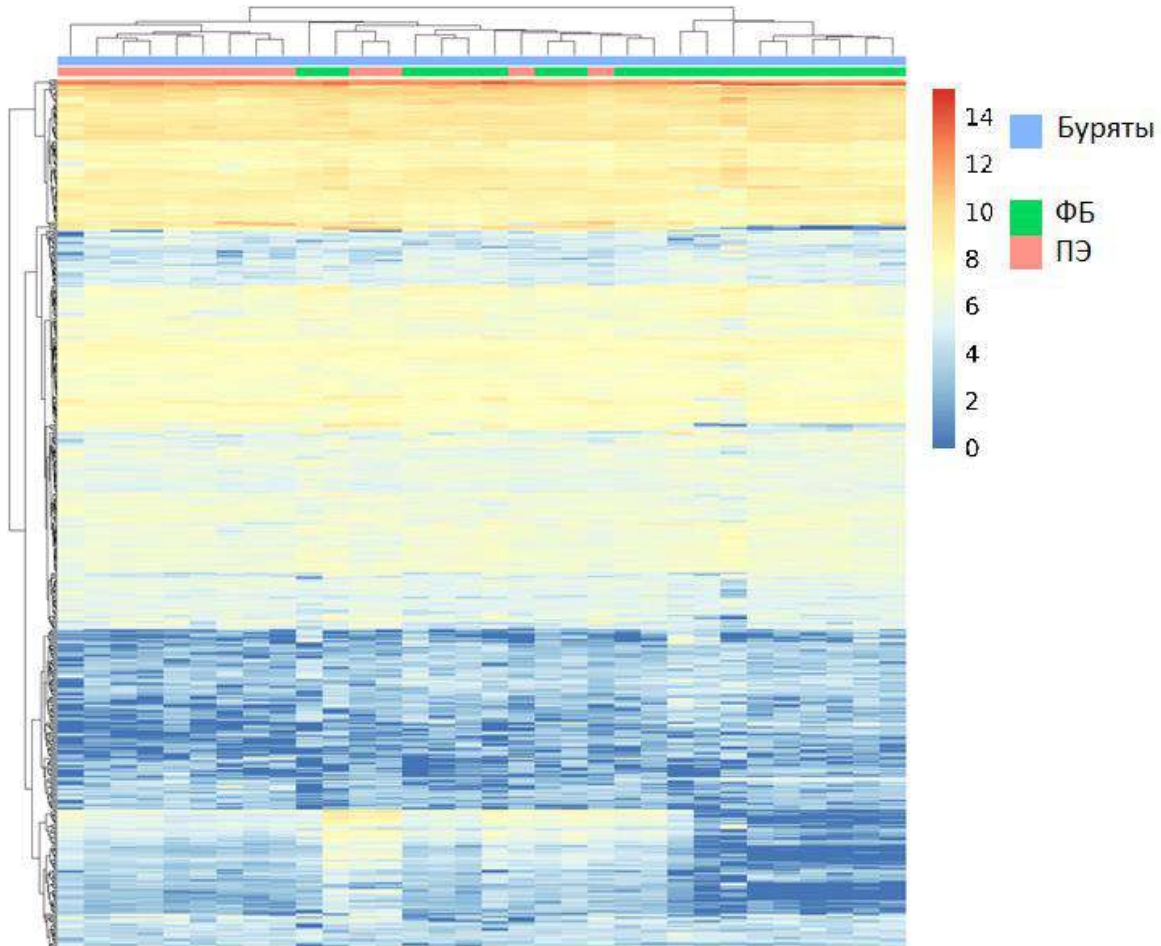


Рисунок 3.7 – Теплокарта 536 ДЭГ для групп бурят с физиологической беременностью и преэклампсией. Зеленая маркировка столбцов присвоена образцам с ФБ, розовая маркировка столбцов присвоена образцам из группы с ПЭ.

Представленная теплокарта отражает уровень экспрессии ($\log_2\text{CPM}$) дифференциально экспрессирующихся транскриптов в группах бурятских женщин. Наблюдается четкая картина кластеризации образцов больных и здоровых индивидов (за исключением нескольких образцов) по блокам гипо- и гиперэкспрессирующихся генов. Полученные гипо- и

гиперэкспрессирующиеся транскрипты были разложены по Gencode-категориям, характеризующим их функции (Рисунок 3.8). Гипоэкспрессирующимися при ПЭ в основном являлись белок-кодирующие транскрипты, тогда как в случае гиперэкспрессирующихся генов при ПЭ наблюдалось значимое снижение части кодирующих белок транскриптов ($p=0.019$ при $\chi^2=5.58$) и появление новых категорий транскриптов не кодирующих РНК. Роль различных видов не кодирующих РНК в беременности и патогенезе ПЭ активно обсуждается в последнее десятилетие [15, 8, 312, 191, 233, 90], часто в контексте трех основных путей – развития ишемии/гипоксии, в иммунных процессах и при ангиогенезе. Экспериментально была продемонстрирована важная роль микроРНК в плаценте. Например, в экспериментах на мышинных моделях, нокаут гена *Dicer*, участвующего в биогенезе микроРНК, приводил к нарушению роста сосудов и последующей смерти эмбрионов [312]. Также было показано, что в клетках синцитиотрофобластов созревают экзосомы, содержащие в себе молекулы микроРНК. Эти экзосомальные плацентарные микроРНК могут участвовать в коммуникации клеток матери и плода и выполнять функции создания и поддержания иммунной толерантности матери к плоду, что дополнительно подчеркивает важность правильного функционирования микроРНК в процессе беременности [90, 191].

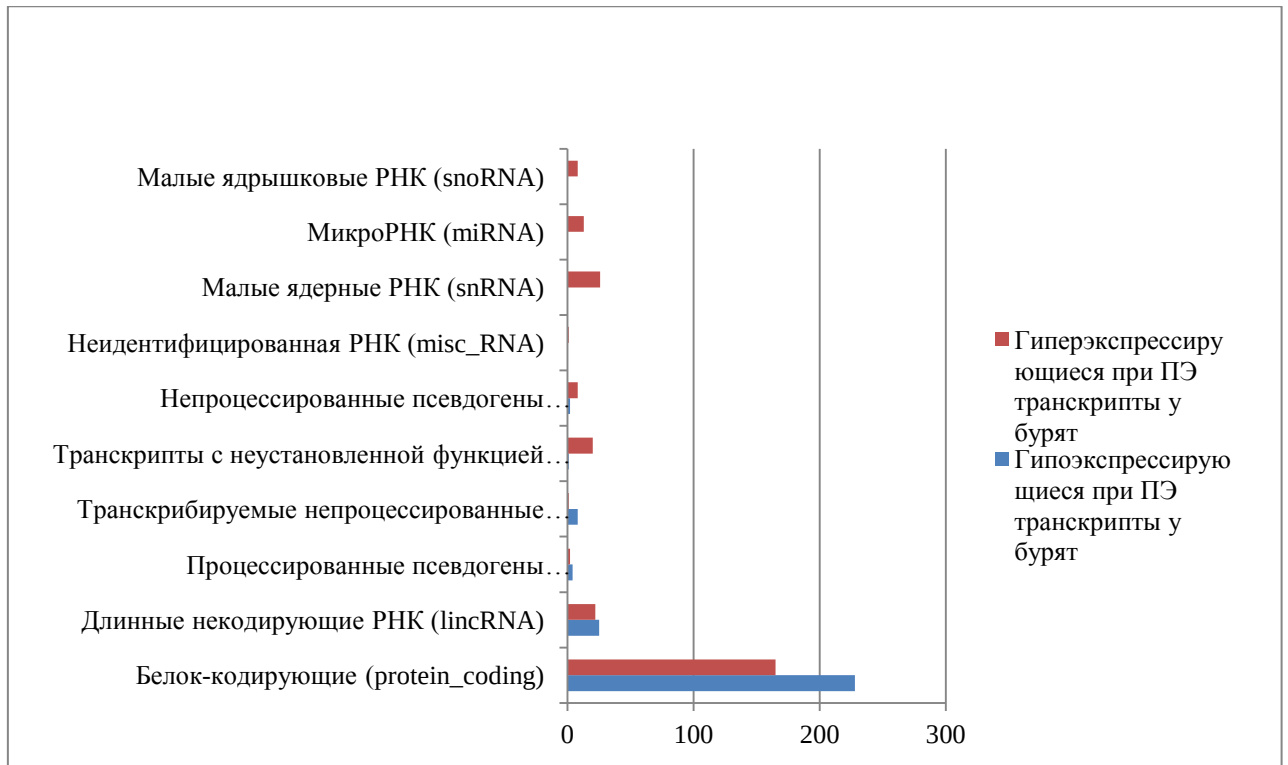


Рисунок 3.8 – Категории транскриптов ДЭГ гипо- и гиперэкспрессирующиеся при ПЭ у бурят.

При анализе списка ДЭГ для бурятских женщин с ФБ и ПЭ 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*). В таблице 3.4 представлена краткая характеристика 20-ти генов с минимальными и максимальными значениями кратности изменения экспрессии. Интересно отметить, что нет пересечений между топовыми гипо- и гиперэкспрессирующимися ДЭГ, идентифицированными (отдельно) для русских и бурятских женщин, что свидетельствует о значительной популяционной специфичности молекулярных механизмов ПЭ на уровне ДК.

Таблица 3.4 – Краткая характеристика 10 гипо- и 10 гиперэкспрессирующихся ДЭГ у бурят при ПЭ.

Наиболее гипоекспрессирующиеся ДЭГ у бурят при ПЭ (ТОП-10)				
Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	P-уровень
<i>TEX29</i>	13	Ген, экспрессирующийся в яичках 29	6.790	0.002
<i>SIK1</i>	21	Соле- индуцируемая киназа 1	6.533	<0.0001
<i>LINC01320</i>	2	длинная межгенная некодирующая белок РНК 1320	4.429	0.000
<i>AL356747</i>	6	Новый транскрипт	4.045	0.000
<i>LRRC7</i>	1	богатый лейцином повтор, содержащий 7	3.722	0.002
<i>PROM1</i>	4	промнин 1	3.652	0.000
<i>AL121949</i>	6	богатый лейцином повтор, содержащий псевдоген 59 (LRRC59)	3.623	0.001
ENSG00000289133	13	Семейство анкириновых доменов POTE, представитель псевдогена С (POTEC)	3.560	<0.0001
<i>DLGAP1</i>	18	DLG-ассоциированный белок 1	3.447	0.000
<i>DELEC1</i>	9	Ген, выделенный при раке пищевода 1	3.389	0.002
Наиболее гиперэкспрессирующиеся ДЭГ у бурят при ПЭ (ТОП-10)				
Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	P-уровень
<i>MARCO</i>	2	рецептор макрофагов с коллагеновой структурой	-3.500	0.001
<i>KRT24</i>	17	кератин 24	-3.500	0.000
ENSG00000232342	10	Новый транскрипт	-3.420	0.000
<i>RNU5A-1</i>	15	РНК, малая ядерная U5A 1	-3.356	0.000
<i>RNU6-6P</i>	10	РНК, малый ядерный 6 U6, псевдоген	-3.348	0.000
<i>MT-TD</i>	MT	митохондриально кодируемая тРНК-Asp (GAU/C)	-3.345	0.000
<i>RNY4</i>	7	РНК, Ro60-ассоциированный Y4	-3.316	<0.0001
<i>MT-TV</i>	MT	митохондриально кодируемая тРНК-Val (GUN)	-3.241	0.000
<i>MT-TI</i>	MT	митохондриально кодируемая тРНК-Изолейцин (AUU/C)	-3.239	0.000
<i>RNA5SP150</i>	3	РНК, 5S рибосомный псевдоген 150	-3.238	<0.0001

Как и для генов у русских, для топовых гипо- и гиперэкспрессирующихся генов у бурят не было установлено их связи с развитием ПЭ. Согласно базе данных «DisGeNet», вышеперечисленные гены ассоциированы с дисфункциями глазного яблока и сетчатки (C1847515, C3549703, C0423414, C4072987, C0008521), в основном затрагивающими сосудистую оболочку и приводящими к нарушению трофики и снижению остроты зрения.

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 (клетки соединительной ткани) (Таблица 3.5). Апоптоз является физиологическим процессом обновления трофобласта во время беременности, он регулирует клеточный состав и рост клеток в плаценте и децидуальной оболочке, сильно влияя на иммунную толерантность матери и плода [232, 218]. Отмечается присутствие апоптотических клеток на самых ключевых стадиях развития плаценты, включая инвазию трофобласта, ремоделирование спиральных артерий, дифференцировку трофобластов и непосредственно в родах [26]. Однако имеются данные об усилении апоптоза в популяции вневорсинчатых трофобластов при преэклампсии и задержке роста плода [295]. Авторы отмечают, что в сыворотке женщин с ПЭ регистрировались повышенные уровни различных хемокинов, факторов роста и цитокинов, которые участвуют в регуляции апоптоза. Таким образом, 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 [232, 26, 295, 126, 150, 218].

Таблица 3.5 – Аннотация ДЭГ при сравнении групп с ФБ и ПЭ из бурятской популяции.

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	p-value	FDR
GO:0097190	апоптотический сигнальный путь	582	30	<0.0001	0.043
GO:0002062	дифференцировка хондроцитов	119	11	<0.0001	0.171
GO:0060350	костный морфогенез	70	8	<0.0001	0.278
GO:0010225	реакция на ультрафиолет	15	4	<0.0001	0.278
GO:0072160	дифференцировка эпителиальных клеток канальцев нефрона	15	4	<0.0001	0.278
GO:0031328	позитивная регуляция клеточного биосинтеза	1919	62	<0.0001	0.278
GO:1903508	позитивная регуляция транскрипции	1583	53	<0.0001	0.278
GO:1902680	позитивная регуляция биосинтеза РНК	1584	53	<0.0001	0.278
GO:0051216	развитие хрящей	205	13	<0.0001	0.278
GO:0009891	позитивная регуляция процесса биосинтеза	1949	62	<0.0001	0.278

Установлено, что изменения экспрессионного профиля децидуальных клеток у бурятских женщин в результате тяжелой гестационной патологии затрагивают ряд путей, ответственных за процессы дифференцировки костных, хрящевых и эпителиальных клеток, что указывает на активное вовлечение процессов роста и развития и может указывать на вероятные механизмы задержки роста плода. Нарушение в генах, связанных с осуществлением вышеперечисленных функций, будет негативно сказываться не только на внутриутробном развитии плода, но также оказывать влияние на сам процесс установления беременности, так как в процессе имплантации и инвазии зародыша наиболее критичным является правильное развитие эпителиальных структур плаценты.

При построении сети белок-белковых взаимодействий для данного кластера транскриптов показано, что 292 гена (54.5%) находились во взаимосвязи (Рисунок 3.9).

Также стоит отметить, что по сравнению с белковой сетью ДЭГ у русских, для бурят была получена более обширная белковая сеть, в которой основным характером взаимодействий между структурными элементами сети явилась коэкспрессия – между 49.0% генов, а для 32.71% были характерны прямые белок-белковые связи. Можно выделить 3 гена, обладающих максимальным количеством связей с наибольшей силой 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 3.10).

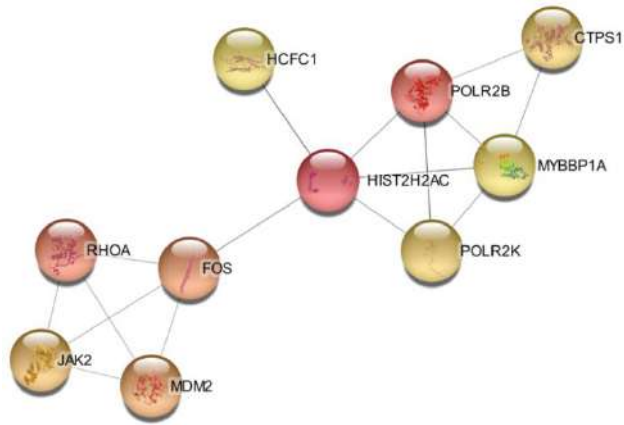


Рисунок 3.10 – Кластер генов с наибольшей силой связи (hub genes) для сети белок-белковых взаимодействий ДЭГ при сравнении бурятских женщин с ФБ и ПЭ.

Для обозначенных генов также была предположена схема их вероятного участия в патогенетических процессах при ПЭ (Рисунок 3.11). 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. Нарушение популяционного состава плаценты, а также дисбаланс в фазах клеточного роста будут приводить к аномальной плацентации и впоследствии к развитию ПЭ.



Рисунок 3.11 – Схема предполагаемого участия главных генов (*POLR2B* и *RHOA*) в патогенезе преэклампсии.

Также известно, что сигнальный путь RhoA/ROCK в настоящее время считается многофункциональным путем, который участвует в широком спектре патофизиологических процессов при эндометриозе – воспалительном заболевании, характеризующимся разрастанием дисфункциональной эндометриальной ткани за пределы полости матки, следствием этого процесса может стать неконтролируемая инвазия эндометрия в соседние ткани, впоследствии это может приводить к возникновению очагов с опухолеподобной активностью. Все вышеперечисленные процессы ведут к нарушениям менструального цикла, процессов нормального перерождения эндометриальной ткани и, как следствие, трудностям при установлении беременности на процессах имплантации и инвазии [222].

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

Анализ дифференциальной экспрессии генов децидуальных клеток в обследованных группах русских и бурят позволил выявить статистически значимые различия при сравнении здоровых и больных индивидов. При сопоставлении списков ДЭГ между группами с ФБ и ПЭ у русских и бурят идентифицировано 48 пересекающихся транскриптов, отражающих общие пути патологического процесса (Рисунок 3.12), однако сетевой анализ кластера общих ДЭГ не показал высокой координации их белковых продуктов между собой. В результате функциональной аннотации данные транскрипты входят в категории, участвующие в процессах биосинтеза, метаболизма и транспорта жирных кислот, а также в процессах организации структур головного мозга и развития центральной нервной системы (Таблица 3.6). Интересно отметить, что большинство общих ДЭГ были гиперэкспрессированы как у русских, так и у бурят (32 гена), однако для ряда генов наблюдалось разнонаправленное изменение экспрессии в зависимости от популяции. Так 7 генов (*ATXN1L*, *MBD6*, *SEC61A2*, *RTN4RL2*, *LINC00958*, *MTND5P11*, *AC074135.1*) были гиперэкспрессированы в образцах русских

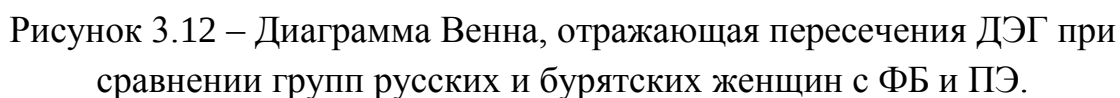


Таблица 3.6 – Функциональная аннотация кластера общих ДЭГ при ПЭ и ФБ в выборках русских и бурят.

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	p-value	FDR
GO:0015909	транспорт длинноцепочечных жирных кислот	65	<i>PLA2G4A</i> <i>ACSL3</i>	0.001	1,000
GO:0007420	развитие мозговых структур	714	<i>ATP5PB</i> <i>ACSL3</i> <i>RTN4RL2</i> <i>ATXN1L</i>	0.001	1,000
GO:0046470	метаболизм фосфатидилхолина	79	<i>PLA2G4A</i> <i>ACSL3</i>	0.001	1.000
GO:0060322	развитие головы	758	<i>ATP5PB</i> <i>ACSL3</i> <i>RTN4RL2</i> <i>ATXN1L</i>	0.002	1.000
GO:1901570	биосинтез производных жирных кислот	88	<i>PLA2G4A</i> <i>ACSL3</i>	0.002	1.000
GO:0015908	транспорт жирных кислот	92	<i>PLA2G4A</i> <i>ACSL3</i>	0.002	1.000
GO:0043062	внеклеточная компартментализация	400	<i>TGFBI</i> <i>ACSL3</i> <i>ATXN1L</i>	0.003	1.000
GO:0001676	метаболизм длинноцепочечных жирных кислот	107	<i>PLA2G4A</i> <i>ACSL3</i>	0.003	1.000
GO:0007417	развитие центральной нервной системы	949	<i>ATP5PB</i> <i>ACSL3</i> <i>RTN4RL2</i> <i>ATXN1L</i>	0.004	1.000
GO:2001245	регуляция биосинтеза фосфатидилхолина	5	<i>ACSL3</i>	0.004	1.000

Хочется отметить, что в каждой из перечисленных категорий представлен ген семейства длинноцепочечных ацил-КоА-синтетаз (*ACSL3*). Ацил-КоА-синтетаза (*ACSL*) активирует длинноцепочечные жирные кислоты как для синтеза клеточных липидов, так и для их деградации посредством бета-окисления [289]. Неоднократно сообщалось о роли жирных кислот и их производных в процессах воспаления, окислительного стресса и клеточного апоптоза, которые приводят к развитию эндотелиальной дисфункции и преэклампсии. Обнаружено, что концентрация общего холестерина, ЛНП, ЛПОНП и триглицеридов значительно повышена у женщин с ПЭ по

сравнению с женщинами без беременности и по сравнению с беременными женщинами без осложнений [325], а уровень ЛВП снижен у женщин с ПЭ [208]. Повышенные концентрации триглицеридов и свободных жирных кислот в сыворотке крови у женщин с ПЭ могут способствовать дисфункции эндотелиальных клеток при преэклампсии. Также обсуждается, что катаболизм жирных кислот за счет более высокого липолиза вследствие быстрого роста и развития плода выше при ПЭ, чем при неосложненной беременности, приводит к гиперлипидемии. Гиперлипидемия в свою очередь усиливает окислительный стресс и воспаление и приводит к эндотелиальной дисфункции [208, 159, 47]. Подчеркивается, что нарушение липидных параметров является патогенетическим фактором ПЭ. Липиды и их производные способны вызвать повреждение эндотелия и, как следствие, повышение артериального давления и возникновение протеинурии – клинических симптомов ПЭ [289].

В общем виде предполагаемая роль биологических процессов, ассоциированных с преэклампсией, как в популяции русских, так и в популяции бурятских женщин, была предложена в графическом представлении основных патогенетических звеньев при развитии ПЭ (Рисунок 3.13).

Предполагается, что преэклампсия протекает в два этапа. На первой стадии (А) происходит нарушение плацентации и инвазии цитотрофобласта в материнские ткани. Во время имплантации клетки трофобласта дифференцируются в цитотрофобласты и синцитиотрофобласты. Цитотрофобласты образуют вневорсинчатые трофобласты, которые индуцируют ремоделирование спиральных артерий миометрия (САМ), таким образом преобразуя сосудистую систему с высоким сопротивлением и низким кровотоком в сосудистую систему с низким сопротивлением и высоким кровотоком, необходимую для нормального роста плода. В свою очередь неполное ремоделирование снижает плацентарную перфузию, что приводит к гипоксии/ишемии плаценты.

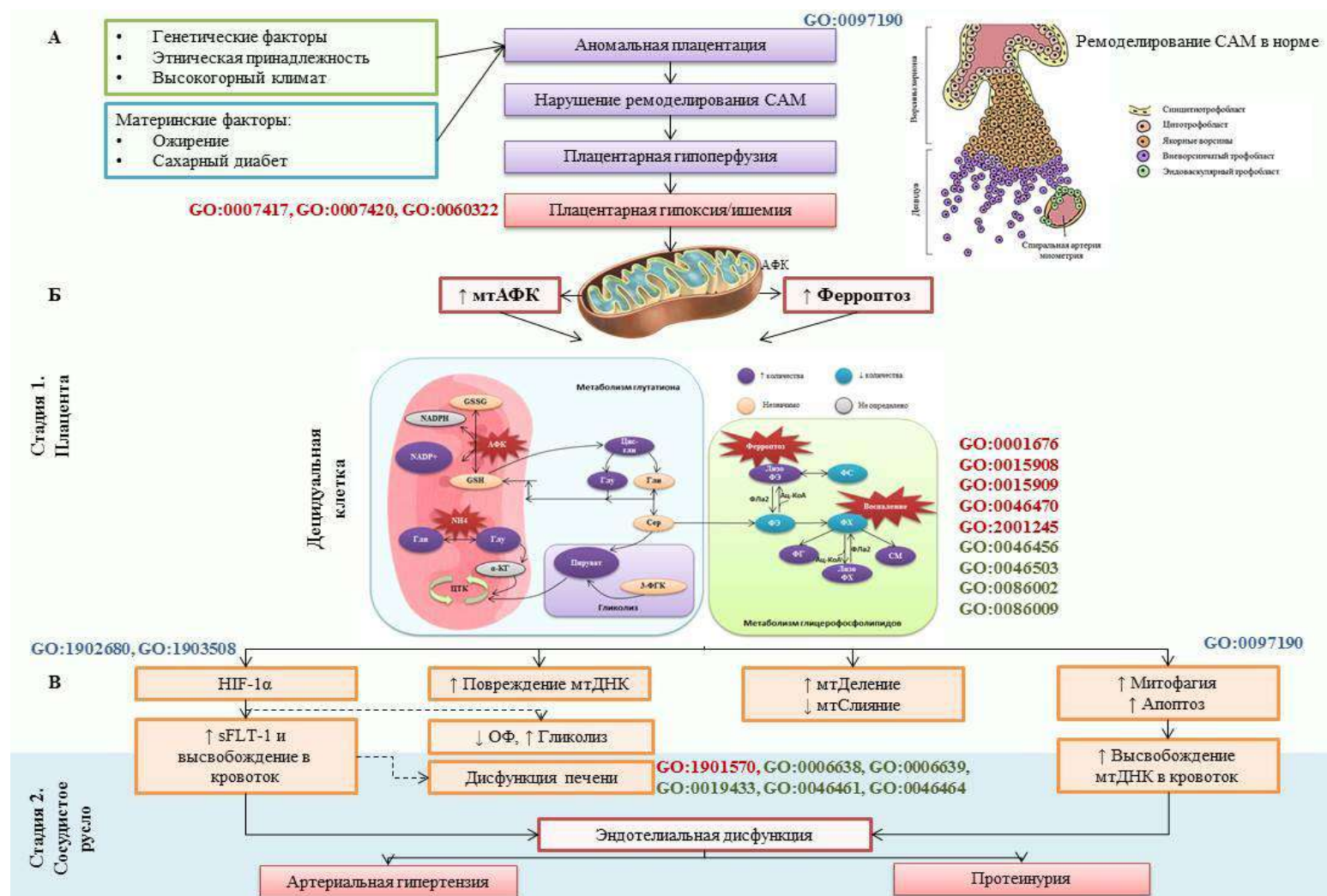


Рисунок 3.13 – Общая схема патогенеза преэклампсии с указанием возможной роли общих и специфичных для изученных популяций биологических процессов, ассоциированных развитием преэклампсии.

На рисунке 3.13 круги, отмеченные фиолетовым, синим, оранжевым и серым цветами, обозначают усиление регулирования, снижение регулирования, незначительность и необнаружение соответственно. На рисунке введены следующие обозначения: GSH, глутатион; GSSG, дисульфид глутатиона; АФК, активные формы кислорода; Глн, глутамин; Glu, глутамат; ЦТК, цикл трикарбоновых кислот; α -КГ, α -кетоглутаровая кислота; Цис, цистеин; Гли, глицин; 3-ФГК, 3-фосфо-D-глицерат; ФС, фосфатидилсерины; ФЭ, фосфатидилэтаноламины; ФХ, фосфатидилхолины; ФГ, фосфатидилглицерин; СМ, сфингомиелин; ЛизоФЭ, лизофосфатидилэтаноламин; ЛизоФХ, лизофосфатидилхолин; ФЛа2, фосфолипаза A2; Ац-КоА, ацетил-коэнзим А.

На второй стадии (Б) в результате гипоксии и ишемии плаценты в клетках развивается окислительный стресс, который, в свою очередь, усиливает высвобождение активных форм кислорода (АФК). Одним из важнейших следствий повышенного образования АФК является избыточная и неконтролируемая в этих условиях активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Чрезмерная, патологически усиленная активация ПОЛ под действием АФК приводит к изменению или даже повреждению клеточных мембран, называемому ферроптозом, который, как было подтверждено, участвует в патогенезе и развитии ПЭ. Количество митохондрий в плаценте при преэклампсии намного больше, и эти митохондрии обладают большей восприимчивостью к перекисному окислению липидов.

Накапливающиеся данные свидетельствуют о том, что митохондриальная дисфункция играет центральную роль в патогенезе преэклампсии. Индуцированное плацентарной гипоксией/ишемией перепроизводство митохондриальных активных форм кислорода (мтАФК), по-видимому, является основным фактором митохондриальной дисфункции, способствуя повреждению мтДНК и высвобождению мтДНК в кровоток, изменяя динамику митохондрий и митофагию и усиливая апоптоз (В).

мтАФК также стабилизируют HIF-1 в плаценте, который затем перепрограммирует метаболизм и стимулирует экспрессию sFlt-1 и высвобождение в кровотока. sFlt-1 и мтДНК наряду с другими биологически активными факторами инициируют системное воспаление и эндотелиальную дисфункцию, порождая фенотип преэклампсии (в первую очередь артериальную гипертензию и протеинурию).

В заключение можно отметить характерную для бурят большую вовлеченность в патогенез ПЭ процессов апоптоза, клеточного роста, дифференцировки, что подтверждается высокой экспрессионной активностью связанных с ними генов. Для русских женщин отличительной чертой транскриптомного профиля децидуальных клеток явились процессы поляризации мембран и метаболизма жирных кислот. В обоих случаях прослеживается большая активность генов, которые, так или иначе, влияют на формирование структур соединительных и нервных тканей в процессе беременности. Таким образом, отмечаются существенные различия как в ДЭГ, так и в биологических путях, регуляторных и эпигенетических элементах, связанных с популяционной спецификой. Для более детального анализа наблюдаемого вклада популяционной принадлежности на паттерны транскриптома, связанные с развитием ПЭ, были проведены сравнения экспрессионных профилей ДК между русскими и бурятами в пределах одного фенотипа – ФБ и ПЭ.

3.2 Анализ популяционной общности и специфичности паттернов транскриптома децидуальных клеток у русских и бурят

Ранее были проведены работы, свидетельствующие о наличии особенностей течения беременности, характерных для разных популяций. Так, например, в исследованиях д.м.н. Фаткулиной И.Б. сообщается о различиях в значениях показателей артериального давления (АД) и сердечного ритма у беременных женщин бурятской и русской популяций, как в случаях неосложненной беременности, так и при наличии эссенциальной гипертензии и ПЭ [22, 5, 24]. Были выявлены этнические

особенности суточного профиля артериального давления у беременных бурятской национальности с тяжелой ПЭ, характеризующиеся часто встречающимся отсутствием ночного снижения АД, а также повышением ДАД ночью. У беременных русской национальности, в целом, были установлены более высокие значения суточного САД. В настоящем исследовании также наблюдается схожая тенденция, где в группе русских индивидов с ПЭ средние значения САД и ДАД выше, чем аналогичные показатели у женщин из бурятской популяции. Помимо приведенных данных по российским популяциям, некоторые зарубежные исследователи также сообщают о расовых различиях в уровнях циркулирующих биомаркеров ПЭ [115, 321]. Показано, что более низкими уровнями PlGF и высокими уровнями sEng обладали европейские и латиноамериканские женщины, по сравнению с афроамериканками. Или, например, высокие уровни sFlt-1 (или sVEGFR-1) связаны с повышенным риском развития ранней тяжелой ПЭ только у латиноамериканцев и европеоидов [115]. Сообщалось также о расовых различиях в отношении уровня фактора некроза опухоли- α (TNF- α) в крови беременных. Провоспалительный паттерн с повышенной экспрессией TNF- α чаще встречался среди афроамериканок по сравнению с женщинами европеоидной расы [321]. В тоже время, единственное исследование транскриптома плацентарной ткани, проведенное на четырех популяционных выборках, также сообщает о наличии популяционных особенностей в экспрессии генов в плаценте при неосложненной беременности [120].

Таким образом, на втором этапе настоящей работы были проведены сравнения транскриптомных профилей между популяционными выборками в пределах одного и того же фенотипического признака – между русскими и бурятами с ФБ, а также между русскими и бурятами с ПЭ (Рисунок 3.14) с целью характеристики возможных популяционных «особенностей» течения беременности как в случае нормальной беременности, так и при гестационном осложнении. Необходимо подчеркнуть, что до настоящего

времени не проводился сравнительный анализ транскриптомных профилей плаценты при патологии беременности в различных популяциях человека.

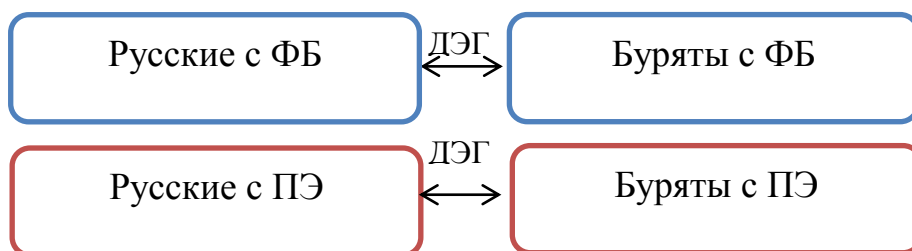


Рисунок 3.14 – Дизайн сравнения групп для поиска ДЭГ между популяционными выборками, отличными по статусу течения беременности.

Так, всего было выявлено 722 дифференциально экспрессирующихся гена: 282 ДЭГ в группах русских и бурят с ФБ и 440 ДЭГ в группах русских и бурят с ПЭ. В следующих разделах будут более подробно рассмотрены результаты сравнения популяционных выборок отдельно для неосложненной беременности и для ПЭ.

3.2.1. Анализ общности и специфичности паттернов транскриптома децидуальных клеток у русских и бурят при физиологической беременности

Результаты попарного сравнения образцов русских и бурят с ФБ демонстрируют наличие среди контрольных групп 282 гена, которые имеют разный уровень экспрессии в зависимости от популяционной принадлежности (Рисунок 3.15). Карта кластеризации образцов и транскриптов в зависимости от уровня экспрессии демонстрирует близкие профили экспрессии для здоровых русских и бурят. При анализе гипо- и гиперэкспрессирующихся генов гиперэкспрессия в образцах русских была показана для 131 транскрипта. Наибольшей кратностью изменений обладали транскрипты групп белок-кодирующих генов, а также транскрипты групп длинных некодирующих РНК (*AL117329*, *AC116096*, *PCDH7*, *SPRR2G*, *LEP*, *AL513303*, *ACOT1*, *CAPNS2*, *HLA-J*, *XKR4*, *LHX5*, *PNMT*, Таблица 3.7). Гипоэкспрессирующимися для образцов русских выступил 151 транскрипт из группы ДЭГ. Примечательно, что для данного кластера генов транскрипты, показавшие наибольшие изменения в экспрессии, в основном относятся к

категориям генов длинных и малых ядерных РНК (*SMG1P4*, *RNU6-6P*, *RNU5B-1*, *LINC02384*, *SNORA74A*, *SNORA80E*, *NCAM1*, *ZFP42*, *HIST3H2BB*, *VTRNA1-1*, *CPEB1*, Таблица 3.7).

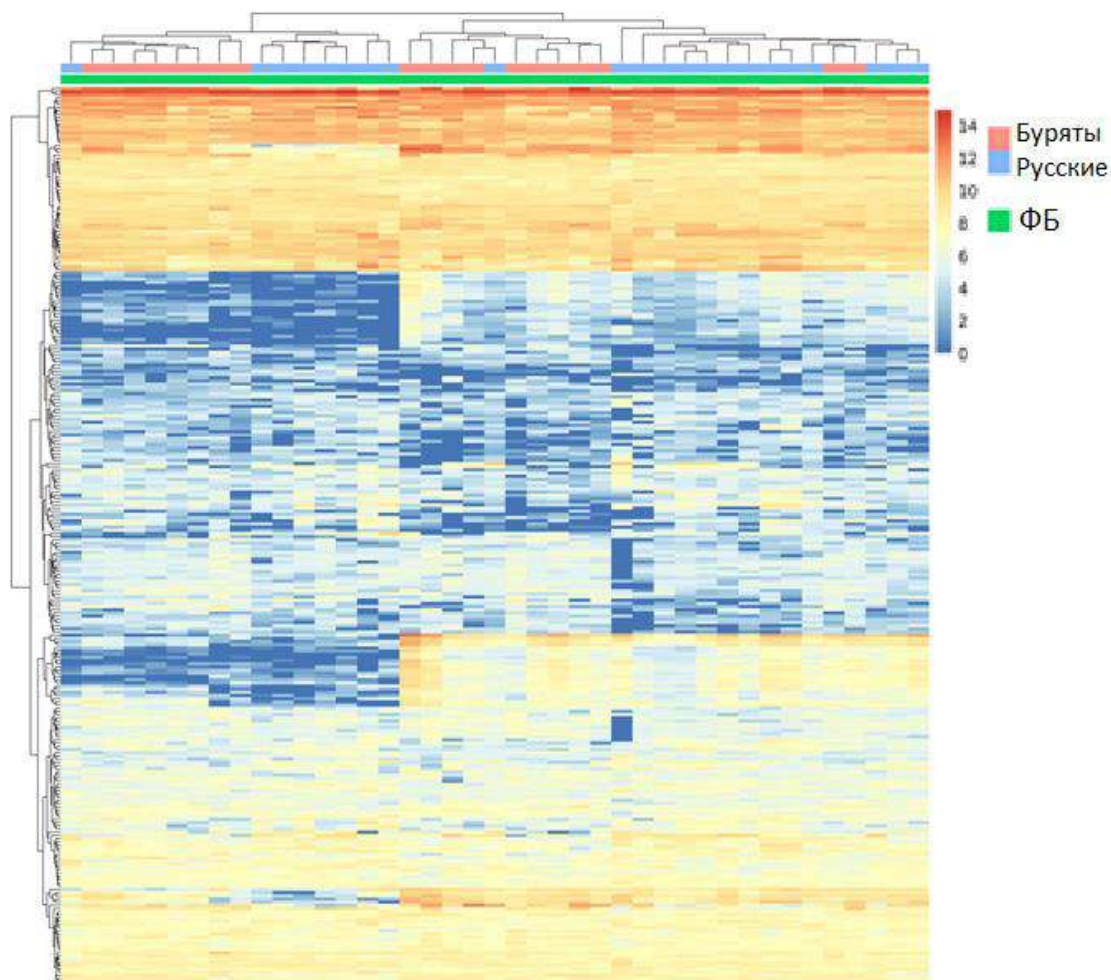


Рисунок 3.15 – Теплокарта 282 ДЭГ при сравнении групп русских и бурят с физиологической беременностью. Синяя маркировка столбцов присвоена образцам русских женщин, розовая маркировка столбцов присвоена образцам бурятских женщин.

Таблица 3.7 – Таблица наиболее гипер- и гипозэкспрессирующихся транскриптов, характерных для русских и бурят с ФБ.

Наиболее гиперэкспрессирующиеся ДЭГ у русских при ФБ (ТОП-10)				
Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	p-value
<i>EPIC1</i>	22	индуцированный МЫС, взаимодействующий с днРНК 1	2.911	0.009
<i>AC116096</i>	3	новый транскрипт	2.634	0.009
<i>PCDH7</i>	4	протокадгерин 7	2.569	0.000
<i>SPRR2G</i>	1	небольшой белок, богатый пролином 2G	2.518	<0.0001

Продолжение таблицы 3.7.

Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	p-value
<i>LEP</i>	7	лептин	2.385	<0.0001
<i>LINC02660</i>	10	длинная межгенная некодирующая белок РНК 2660	2.347	0.003
<i>ACOT1</i>	14	Ацил-КоА-тиоэстераза 1	2.281	0.007
<i>CAPNS2</i>	16	кальпаин малая субъединица 2	2.266	0.009
<i>HLA-J</i>	6	главный комплекс гистосовместимости, класс I, J (псевдоген)	2.156	0.003
<i>XKR4</i>	8	ХК4	2.145	0.003
Наиболее гипохеэкспрессирующиеся ДЭГ у русских при ФБ (ТОР-10)				
Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	p-value
<i>CPEB1</i>	15	цитоплазматический элемент полиаденилирования, связывающий белок 1	-2.695	0.003
<i>H2BC26</i>	1	H2B сгруппированный гистон 26	-2.422	<0.0001
<i>ZFP42</i>	4	белок цинковых пальцев ZFP42	-2.208	<0.0001
<i>SNORA74A</i>	5	малая ядрышковая РНК, H/ACA 74A	-2.208	0.000
<i>NCAM1</i>	11	молекула адгезии нервных клеток 1	-2.206	0.009
<i>SNORA80E</i>	1	малая ядрышковая РНК, H/ACA 80E	-2.124	0.000
<i>LINC02384</i>	12	длинная межгенная некодирующая белок РНК 2384	-2.038	0.003
<i>RNU5B-1</i>	15	РНК, малая ядерная U5B 1	-2.032	<0.0001
<i>RNU6-6P</i>	10	РНК, малый ядерный 6 U6, псевдоген	-2.022	0.000
<i>SMG1P4</i>	16	Псевдоген SMG1 4	-2.017	0.009

Интересным наблюдением представляется нахождение гена лептина в списке наиболее гиперэкспрессирующихся транскриптов. Согласно полученным данным, активность гена лептина в транскриптоме децидуальных клеток русских женщин возрастала в 6 раз, по сравнению с экспрессионным профилем бурят. Помимо очевидной роли лептина в метаболических процессах организма, высокая концентрация гормона вызывает окислительное повреждение эндотелиоцитов и отложение солей кальция в сосудистой стенке. Эти изменения приводят к нарушению структуры сосудистой стенки, снижению ее эластичности и могут способствовать развитию атеросклероза. Кроме того, лептин можно отнести к семейству провоспалительных цитокинов за счет его участия в созревании Т-лимфоцитов, поддержании пула НК-клеток, хемоаттракции и активации

нейтрофилов, которые являются основными эффекторными клетками в децидуальной оболочке [258, 303, 73].

По результатам функциональной аннотации активность ДЭГ при популяционных сравнениях при ФБ, проявляется в процессах синтеза интерлейкинов и регуляции их активности, в сигнальных процессах, в том числе при передаче нервных импульсов, а также в процессах активации и дифференцировки фибробластов (Таблица 3.8).

Таблица 3.8 – Функциональная аннотация кластера ДЭГ при сравнении групп русских и бурят с ФБ.

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	p-value	FDR
GO:0030220	образование тромбоцитов	20	3	0.001	1.000
GO:0071504	клеточный ответ на гепарин	5	2	0.001	1.000
GO:0070948	регуляция нейтрофильной цитотоксичности	5	2	0.001	1.000
GO:0036344	морфогенез тромбоцитов	21	3	0.001	1.000
GO:0050810	регуляция биосинтеза стероидов	84	5	0.001	1.000
GO:0050732	негативная регуляция фосфорилирования пептидил-тирозина	49	4	0.001	1.000
GO:0071503	ответ на гепарин	6	2	0.001	1.000
GO:0030029	процессы связанные с актиновыми филаментами	715	15	0.001	1.000
GO:0045916	негативная регуляция активации системы комплемента	7	2	0.001	1.000
GO:2000258	негативная регуляция активации белкового каскада	7	2	0.001	1.000

При построении сети белок-белковых взаимодействий можно отметить, что из всего списка во взаимосвязи находились 174 гена (Рисунок 3.16), из которых, при анализе с помощью приложения cytoHubba, можно выделить 2 гена, имеющие максимальный ранг (ранг = 1) и обладающие наибольшим количеством связей – *SCD* и *ACTN1* (Рисунок 3.17).

Рисунок 3.17 – Функционально-активные гены для сети ДЭГ между русскими и бурятами с ФБ. Красная маркировка присвоена генам с максимальным рангом = 1.

Мутации гена *ACTN1*, кодирующего α -актинин 1, приводят к изменениям реологии крови за счет фракции тромбоцитов, это может приводить как к повышенной склонности к кровотечениям, так и к склонности к тромбообразованию [46].

3.2.2 Анализ общности и специфичности паттернов транскриптома децидуальных клеток у русских и бурят при преэклампсии

Результаты попарного сравнения транскриптомных профилей децидуальных клеток русских и бурятских женщин с тяжелой формой ПЭ выделяют 440 генов, отвечающих за популяционное разнообразие в рассматриваемой выборке (Рисунок 3.18). Теплокарта свидетельствует о четком разделении образцов русских и бурят с ПЭ по установленным ДЭГ. Так, гиперэкспрессия для русских женщин с ПЭ (гипоэкспрессия у бурят) была характерна для 209 генов из полученного списка ДЭГ, где наибольшими изменениями обладали транскрипты как белок-кодирующих генов, так и генов РНК (*SIK1*, *TEX29*, *AL356747*, *AC074135*, *AL121949*, *CPEB1*, *BMP7*, *CCDC168*, *WASH2P*, *DEC1*, *C10orf67*, Таблица 3.9).

Гипоэкспрессирующимися транскриптами для популяции русских женщин (гиперэкспрессирующимися у бурят) выступил 231 ген, из которых максимальной кратностью изменений обладали гены кератина, белков, связывающих жирные кислоты, различных ферментов и фибриногена (*LRRC17*, *AC022540*, *SMG1P4*, *OR2T10*, *AL033397*, *RPL10P9*, *FABP5*, *KRT24*, *FABP7*, *KRT5*, *ALOX15*, *FGA*, Таблица 3.9).

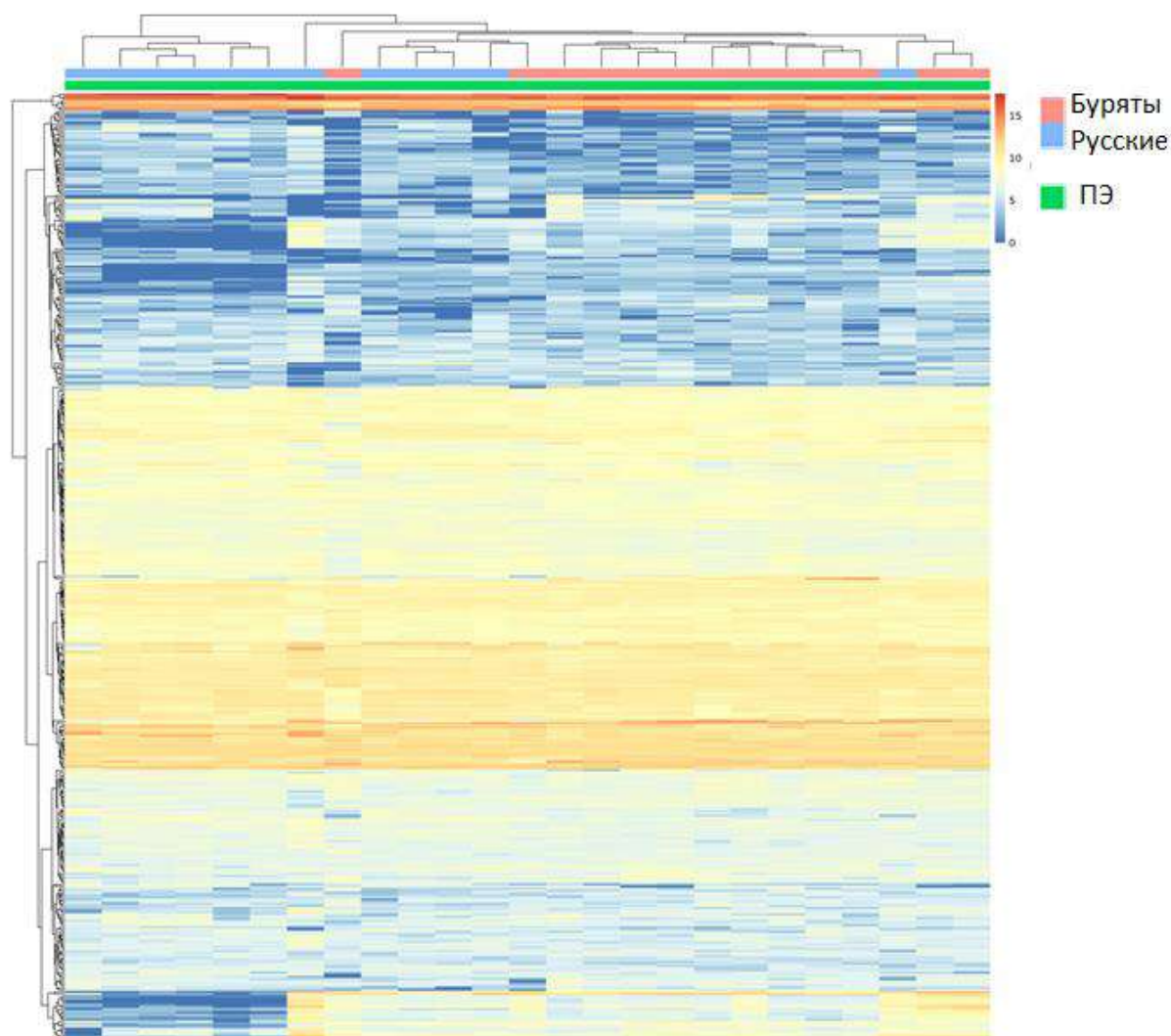


Рисунок 3.18 – Теплокарта 440 ДЭГ при сравнении групп русских и бурят с преэклампсией. Синяя маркировка столбцов присвоена образцам русских женщин, розовая маркировка столбцов присвоена образцам бурятских женщин.

Таблица 3.9 – Таблица наиболее гипер- и гипозэкспрессирующихся транскриптов, характерных для русских и бурят с ПЭ

Наиболее гиперэкспрессирующиеся ДЭГ у русских при ПЭ (TOP-10)				
Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	p-value
<i>SIK1</i>	21	голе-индуцируемая киназа 1	7.644	0.001
<i>TEX29</i>	13	ген, экспрессирующийся в яичках 29	6.635	0.000
<i>AL356747</i>	6	новый транскрипт	4.216	<0.0001
<i>AC074135</i>	19	новый транскрипт	4.013	0.000

Продолжение таблицы 3.9.

Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	p-value
<i>ENSG00000218048</i>	6	богатый лейцином повтор, содержащий псевдоген 59 (LRRC59)	3.975	<0.0001
<i>CPEB1</i>	15	цитоплазматический элемент полиаденилирования, связывающий белок 1	3.859	0.007
<i>BMP7</i>	20	костный морфогенетический белок 7	3.154	0.002
<i>CCDC168</i>	13	спиральный домен 168	3.121	0.006
<i>WASH2P</i>	2	гомолог 2 семейства WASP, псевдоген	3.080	0.000
<i>DELEC1</i>	9	ген, выделенный при раке пищевода 1	3.006	0.000
Наиболее гипоксепрессирующиеся ДЭГ у русских при ПЭ (TOP-10)				
Ген	Хромосома	Описание гена	log2FC	p-value
<i>FGA</i>	4	альфа-цепь фибриногена	-6.349	0.004
<i>ALOX15</i>	17	арахидонат-15-липоксигеназа	-4.720	0.002
<i>KRT5</i>	12	Кератин 5	-4.476	0.007
<i>FABP7</i>	6	белок, связывающий жирные кислоты 7	-4.108	0.000
<i>KRT24</i>	17	Кератин 24	-4.023	0.004
<i>FABP5</i>	8	белок, связывающий жирные кислоты 5	-3.924	0.003
<i>RPL10P9</i>	5	рибосомный белок L10 псевдоген 9	-3.782	<0.0001
<i>AL033397</i>	6	Новый транскрипт	-3.696	0.000
<i>OR2T10</i>	1	семейство обонятельных рецепторов 2 подсемейство Т член 10	-3.693	<0.0001
<i>SMG1P4</i>	16	Псевдоген SMG1 4	-3.558	0.002

Анализ обогащения 440 ДЭГ свидетельствует об активности данного генного кластера преимущественно в процессах, связанных с активацией эстрогенового рецептора, установления клеточного компартмента, активностью мембранных белков, клеточного ответа на раздражитель и транскрипцией мРНК в ядре (Таблица 3.10).

Таблица 3.10 – Функциональная аннотация кластера ДЭГ при сравнении групп русских и бурят с тяжелой формой ПЭ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	p-value	FDR
GO:0045047	белок рецептора эстрогена (ER)	107	12	<0.0001	0.002
GO:0072599	установление локализации белка в эндоплазматическом ретикулуме	111	12	<0.0001	0.002
GO:0006614	SRP-зависимый котрансляционный мембранный белок	95	11	<0.0001	0.002
GO:0006613	котрансляционный мембранный белок	99	11	<0.0001	0.002
GO:0070972	локализация белка в эндоплазматическом ретикулуме	137	12	<0.0001	0.007
GO:0007584	реакция на питательные вещества	216	14	<0.0001	0.029
GO:0009991	ответ на внеклеточный раздражитель	515	23	<0.0001	0.031
GO:0003203	морфогенез эндокардиальной подушки	36	6	<0.0001	0.032
GO:0000184	транскрипция мРНК в ядре	120	10	<0.0001	0.037
GO:0072594	установление локализации белка в органелле	537	23	<0.0001	0.039

Сетевой анализ кластера ДЭГ при сравнении групп русских и бурят с преэклампсией свидетельствует о том, что 327 генов вошли в общую сеть белок-белковых взаимодействий (Рисунок 3.19), где главными функционально-активными элементами сети выступили гены рибосомальных белков (RPLs) (Рисунок 3.20).

Рисунок 3.20 – Функционально-активные гены для сети ДЭГ между русскими и бурятами с тяжелой формой ПЭ. Красная маркировка присвоена генам с максимальным рангом = 1.

Для установленных в ходе сетевого анализа генов не было найдено литературных данных об их связи с патологиями беременности, однако, известно, что рибосомные белки играют ключевую роль в развитии и тканевом гомеостазе. Дисфункции большинства рибосомных белков вызывают дефекты тканевого развития, степень тяжести которых варьирует в зависимости от степени нарушения трансляции, что может приводить к формированию тканеспецифических фенотипов [4].

3.2.3 Анализ общности и специфичности паттернов транскриптома децидуальных клеток у русских и бурят при физиологической беременности и ПЭ

При сопоставлении двух списков ДЭГ, полученных при популяционных сравнениях, идентифицировано 55 пересекающихся транскриптов (Рисунок 3.21), функциональная аннотация которых свидетельствует об участии данных генов в процессах регуляции синтеза и метаболизма липидов, стероидов, эфиров, а также в процессах развития клубочковых структур почек (Таблица 3.11). Большинство (41 транскрипт) из общих дифференциально экспрессирующихся транскриптов в исследованных группах русских и бурятских женщин закономерно изменяли характер экспрессии с гипо- на гиперпредставленность в группах контроля и ПЭ. Однако установлены 6 генов, которые были одинаково гипоэкспрессированы как в контрольной группе, так и при ПЭ: *SEC61A2*, *LINC00958*, *EGR1*, *RTN4RL2*, *MTND5P11*, *CPEB1*, а также 4 гена, для которых была характерна гиперэкспрессия и при ФБ и при ПЭ: *C4BPB*, *CACNA2D3*, *ACSL3*, *HMGCS1*. Вероятно, для установленных генов характер экспрессии в меньшей степени зависит от наличия или отсутствия патологического процесса, и преимущественно определяется фактором популяционной принадлежности.

При сетевом анализе 55 общих транскриптов в онлайн ресурсе STRING не было установлено значимых белок-белковых связей, при уровне достоверности > 0.4 .

Таблица 3.11 – Функциональная аннотация кластера ДЭГ, общих для сравнений русских и бурят с ФБ и ПЭ.

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	p-value	FDR
GO:0046890	регуляция биосинтеза липидов	178	<i>HMGCS1</i> <i>EGR1</i> <i>ACSL3</i>	<0.0001	1.000
GO:0050810	регуляция биосинтеза стероидов	84	<i>HMGCS1</i> <i>EGR1</i>	0.002	1.000
GO:0019216	регуляция липидного обмена	382	<i>HMGCS1</i> <i>EGR1</i> <i>ACSL3</i>	0.002	1.000
GO:0006637	метаболизм ацил-КоА	102	<i>HMGCS1</i> <i>ACSL3</i>	0.002	1.000
GO:0035383	метаболизм тиоэфира	102	<i>HMGCS1</i> <i>ACSL3</i>	0.002	1.000
GO:0019218	регуляция метаболизма стероидов	111	<i>HMGCS1</i> <i>EGR1</i>	0.003	1.000
GO:0071504	клеточный ответ на гепарин	5	<i>EGR1</i>	0.004	1.000
GO:0072300	позитивная регуляция развития метанефрического клубочка	5	<i>EGR1</i>	0.004	1.000
GO:2001245	регуляция биосинтеза фосфатидилхолина	5	<i>ACSL3</i>	0.004	1.000
GO:0072223	развитие метанефрического гломерулярного мезангиума	5	<i>EGR1</i>	0.004	1.000

Из приведенной таблицы видно, что перечисленные категории представлены 3 основными генами: *HMGCS1*, *EGR1* и *ACSL3*. Ген 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермента А (*HMGCS1*) неоднократно упоминается в исследованиях, связанных с изучением роли циркулирующих комплексов миРНК и экзосом в синтезе холестерина [63, 220] и регуляции функций клеток эндотелия [97, 91, 63]. Экзосомы представляют собой подтип внеклеточных везикул размером от 30 до 150 нм, которые могут выделяться большинством типов клеток и циркулировать в жидкостях организма. Экзосомы состоят из липидов, белков, РНК, ДНК и других веществ, связанных с клеточным происхождением, а за счет небольшого размера могут преодолевать клеточные барьеры и выполнять регуляторную функцию, доставляя активные соединения в клетки-мишени. Сообщается, что экзосомы плацентарного происхождения, секретируемые в материнский кровоток,

регулируют функцию материнских органов, устанавливают связь между матерью и плодом [63]. Исследования показали, что изменения в составе содержимого плацентарных экзосом приводят к дисфункции трофобласта и нарушению сосудистого ремоделирования [107, 97]. Ген *EGR1* представляет собой фактор транскрипции, который в основном участвует в процессах повреждения тканей, иммунных реакциях и фиброзе. Недавние исследования показали, что *EGR1* тесно связан с иницированием и прогрессированием опухолей и может участвовать в пролиферации, инвазии и метастазировании клеток, а также в опухолевом ангиогенезе [280]. В плаценте данный ген выполняет роль ростового фактора при ангиогенезе. В ряде экспериментов была установлена гипоекспрессия гена *EGR1* в группе женщин с ПЭ по сравнению с контрольной группой [95, 280]. Участие жирных кислот в большинстве метаболических путей, включая β -окисление и биосинтез сложных липидов, требует их активации путем добавления ацильной КоА группы. Плацентарный транспорт жирных кислот важен для правильного роста и развития плода [290]. Плацента является ключевым органом передачи жирных кислот и других питательных веществ от матери к плоду. Дислипидемия была показана при таких заболеваниях, как преэклампсия [62, 290] и гестационный сахарный диабет [301]. Работа М. Susanne Weedon-Fekjaer и соавторов выявила корреляцию между экспрессией *ACSL3*, активностью ацил-КоА-синтетазы и поглощением жирных кислот в клетках трофобласта, что указывает на важную роль данного гена в трофических процессах клеток при беременности [290].

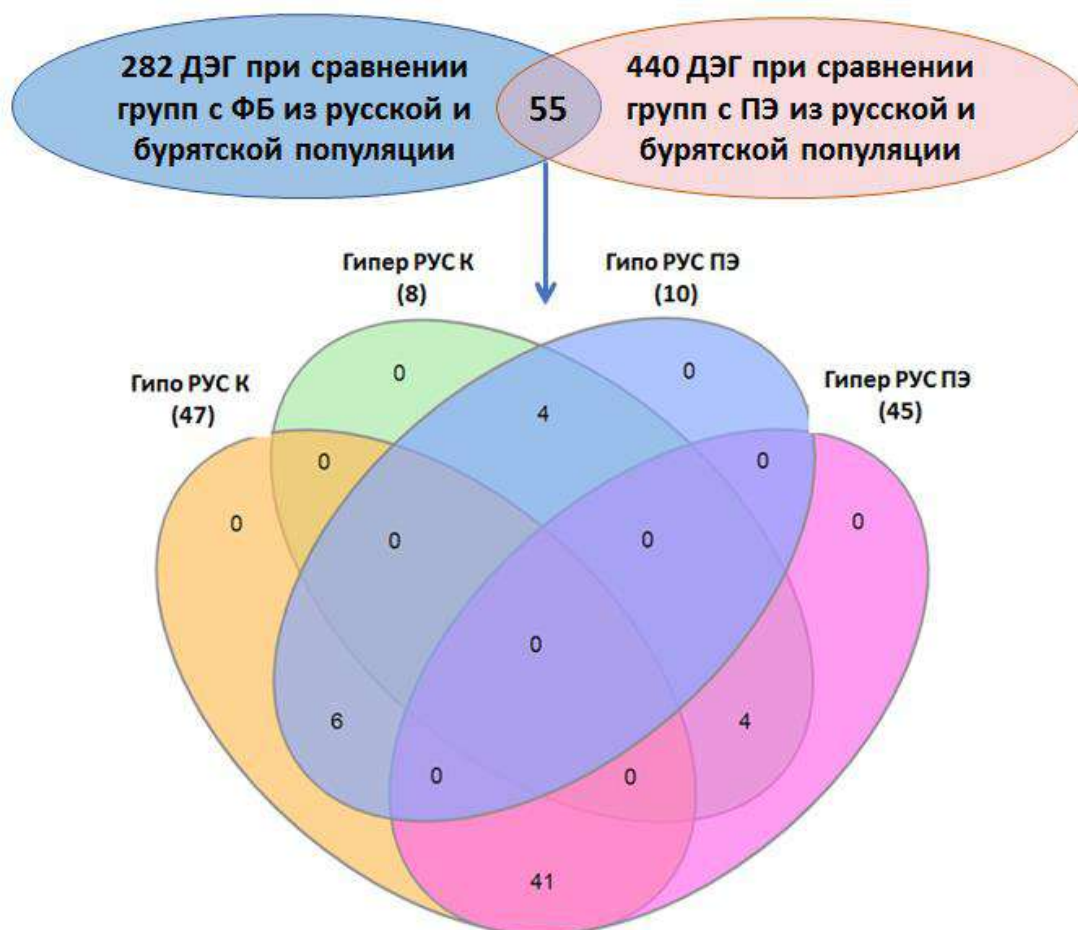


Рисунок 3.21 – Диаграмма Венна, отражающая пересечения ДЭГ при сравнении групп русских и бурятских женщин с ФБ и ПЭ.

Примечание: на рисунке введены следующие обозначения: Гипо РУС К – кластер гипохеэкспрессирующихся генов у русских индивидов с ФБ (гиперэкспрессирующихся у бурят); Гипер РУС К – кластер гиперэкспрессирующихся генов у русских индивидов с ФБ (гипохеэкспрессирующихся у бурят); Гипо РУС ПЭ – кластер гипохеэкспрессирующихся генов у русских индивидов с ПЭ (гиперэкспрессирующихся у бурят); Гипер РУС ПЭ – кластер гиперэкспрессирующихся генов у русских индивидов с ПЭ (гипохеэкспрессирующихся у бурят).

Таким образом, можно заключить, что для нормальной беременности и для ПЭ задействованы разные биологические процессы, участвующие в популяционной дифференциации русских и бурят. В норме гены, дифференциально экспрессирующиеся у русских и бурят, принимают участие в процессах синтеза интерлейкинов и регуляции их активности,

сигнальных процессах, в том числе при передаче нервных импульсов, а также в процессах активации и дифференцировки фибробластов, тогда как при ПЭ анализ обогащения кластера ДЭГ демонстрирует связь с процессами активации эстрогенового рецептора, активностью мембранных белков, клеточного ответа на раздражитель и транскрипцией мРНК в ядре. Общими для двух фенотипов (ФБ и ПЭ) выступили процессы регуляции синтеза и метаболизма липидов, стероидов, эфиров, а также процессы развития клубочковых структур почек.

В целом, из более чем 16 тыс. идентифицированных транскриптов, изменение в уровне экспрессии в зависимости от рассматриваемой группы было показано, в совокупности, для 1118 генов, что составило около 6.7% от всего транскриптома децидуальных клеток плаценты. При сопоставлении всех ДЭГ, полученных как при сравнениях женщин при ФБ и ПЭ, так и при популяционных сравнениях русских и бурят всего было обнаружено 22 пересекающихся транскрипта, более половины из которых относились к категориям транскриптов некодирующих белок РНК, псевдогенов, малых ядерных РНК и транспортных молекул (тРНК) (Рисунок 3.22, Таблица 3.12).

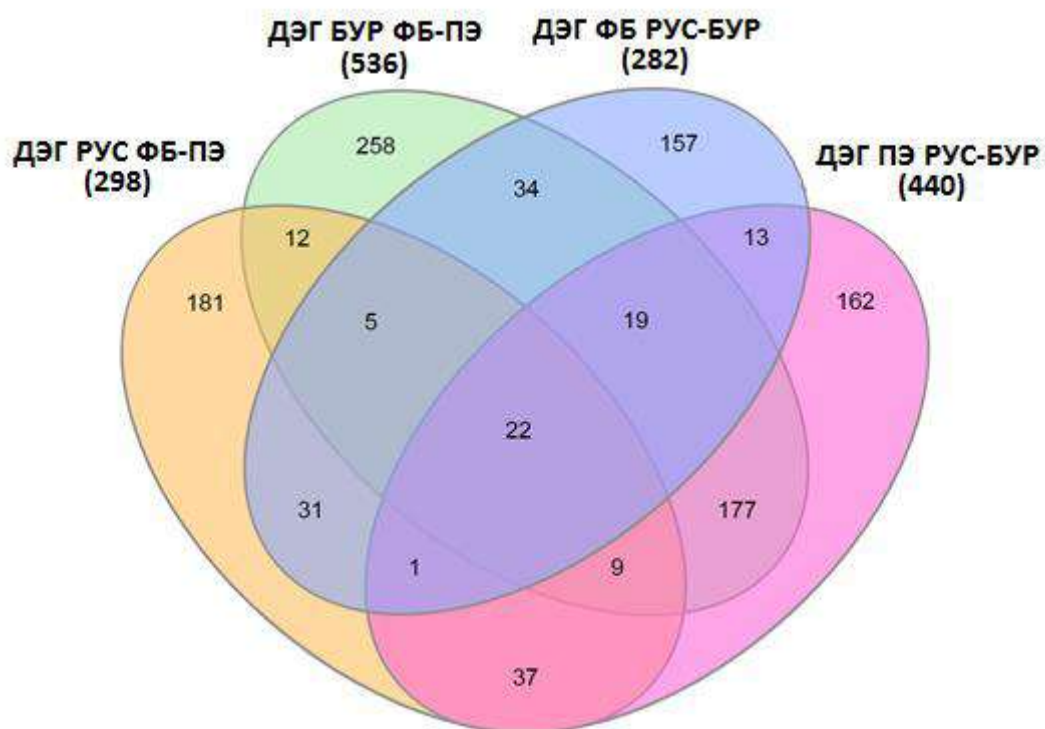


Рисунок 3.22 – Диаграмма Вена, отражающая пересечения ДЭГ при всех сравнениях групп русских и бурятских женщин с ФБ и ПЭ.

Примечание – на рисунке введены следующие обозначения: ДЭГ РУС ФБ-ПЭ – кластер ДЭГ при сравнении групп с ФБ и ПЭ из русской популяции; ДЭГ БУР ФБ-ПЭ – кластер ДЭГ при сравнении групп с ФБ и ПЭ из бурятской популяции; ДЭГ ФБ РУС-БУР – кластер ДЭГ при сравнении групп с ФБ из русской и бурятской популяции; ДЭГ ПЭ РУС-БУР – кластер ДЭГ при сравнении групп с ПЭ из русской и бурятской популяции.

Таблица 3.12 – Кластер общих транскриптов для всех четырех списков ДЭГ

Ген	Функция гена	Локализация
<i>SEC61A2</i>	Компонент транслоконового комплекса, образующего канал SEC61, который опосредует транспорт полипептидов-предшественников, содержащих сигнальные пептиды, через эндоплазматический ретикулум (ER). Образует рибосомный рецептор и закрытую пору в мембране ER, обе функции необходимы для котрансляционной транслокации возникающих полипептидов.	<i>chr10</i>
<i>C4BPB</i>	Контролирует классический путь активации комплемента. Он связывается в качестве кофактора с инактиватором C3b/C4b (C3bINA), который затем гидролизует фрагмент комплемента C4b. Он также ускоряет деградацию комплекса C4bC2a (конвертаза C3) за счет диссоциации фрагмента комплемента C2a.	<i>chr1</i>

Продолжение таблицы 3.12.

Ген	Функция гена	Локализация
<i>ACSL3</i>	Ацил-КоА-синтетазы (ACSL) активируют жирные кислоты с длинной цепью как для синтеза клеточных липидов, так и для деградации посредством бета-окисления (PubMed: 22633490). Необходим для включения жирных кислот в фосфатидилхолин, основной фосфолипид, расположенный на поверхности ЛПОНП (липопротеинов очень низкой плотности) (PubMed: 18003621). В основном играет анаболическую роль в энергетическом обмене. Опосредует печеночный липогенез.	<i>chr2</i>
<i>CACNA2D3</i>	Альфа-2/дельта-субъединица потенциалзависимых кальциевых каналов регулирует плотность кальциевого тока и кинетику активации/инактивации кальциевых каналов.	<i>chr3</i>
<i>RTN4RL2</i>	Рецептор клеточной поверхности, который играет функционально дублирующую роль в ингибировании роста нейритов, опосредованного MAG (по сходству). Играет функционально дублирующую роль в постнатальном развитии мозга. Способствует нормальной миграции аксонов по средней линии мозга и нормальному формированию мозолистого тела.	<i>chr11</i>
<i>RNA5SP145</i>	псевдоген	<i>chr3</i>
<i>RNU5B-1</i>	Сплайсосомная РНК U5	<i>chr15</i>
<i>RNA5SP99</i>	псевдоген	<i>chr2</i>
<i>RNY1</i>	Y-РНК представляют собой небольшие некодирующие РНК, которые первоначально были идентифицированы как РНК-компонент растворимых рибонуклеопротеинов (РНП), называемых Ro-РНП. Ro РНП выявляют в аутоиммунных сыворотках пациентов	<i>chr7</i>
<i>RNY3</i>	Предполагается, что он действует выше или внутри инициации репликации ДНК и репликации ядерной ДНК. Предположительно находится в ядре.	<i>chr7</i>
<i>RNU4-2</i>	Сплайсосомная РНК U4	<i>chr12</i>
<i>SNORA80E</i>	Малые ядрышковые РНК семейства SNORA42/SNORA80	<i>chr1</i>
<i>MT-TI</i>	тРНК	<i>chrMT</i>
<i>MT-TH</i>	тРНК	<i>chrMT</i>
<i>MT-TS2</i>	тРНК	<i>chrMT</i>
<i>SNORD89</i>	Малая ядрышковая РНК	<i>chr2</i>
<i>SNORA3B</i>	Малая ядрышковая РНК	<i>chr11</i>
<i>SNORD99</i>	Малая ядрышковая РНК	<i>chr1</i>
<i>RNU6ATAC</i>	Малая сплайсосомная РНК U6atac	<i>chr9</i>
<i>MTND5P11</i>	псевдоген	<i>chr5</i>
<i>LINC00958</i>	днРНК	<i>chr11</i>
<i>RNU6-6P</i>	псевдоген	<i>chr10</i>

Некодирующие РНК (нкРНК) выступают регуляторами почти во всех клетках и тканях, что было признано со времен проекта «ENCODE» [82, 81]. Тем не менее, лишь небольшая часть нкРНК была идентифицирована, и в

плаценте они исследованы очень незначительно. На сегодняшний день большинство примеров нкРНК, которые, как было установлено, специфичны для тканей плода, включая плаценту, относятся к группе микроРНК (миРНК). МикроРНК представляют собой одноцепочечные РНК длиной 19-25 нуклеотидов, принадлежащие к классу малых нкРНК, которые осуществляют посттранскрипционное блокирование экспрессии генов РНК-мишеней. Эта регуляция осуществляется путем связывания с мРНК и деградации транскрипта или блокирования трансляции. Установлено, что миРНК управляют трансляцией 30-90% кодирующих белок генов [60]. Можно предположить, что регуляция, лежащая в основе плацентации, происходит на молекулярном уровне, через специфические белки и контроль экспрессии ряда генов. Большая часть этого контроля осуществляется на посттранскрипционном этапе, посредством взаимодействий на уровне РНК (главным образом через индукцию нкРНК, деградацию РНК и ингибирование трансляции). Нарушения процессов регуляции нкРНК в ткани плаценты, особенно в децидуальных клетках и клетках трофобласта, по-видимому, связаны с осложнениями беременности, а изменения экспрессии этих генов можно рассматривать и как причину, и как следствие заболевания [195, 319]. В частности, все чаще обсуждается роль миРНК в отношении ПЭ [45, 128]. Так, сообщается о нескольких миРНК, которые потенциально могут выступать биомаркерами ПЭ (миРНК-22, миРНК-218). Примечательно, что при анализе обогащения ДЭГ, ассоциированных с болезнью, для женщин русской и бурятской национальности, наиболее представленной категорией миРНК также выступила AAGCACA, MIR-218 (Таблица 3.13).

Таблица 3.13 – Перечень наиболее обогащенных категорий миРНК, ассоциированных с ДЭГ при ПЭ и ФБ в изученных популяционных выборках

Категории миРНК для ДЭГ при ФБ и ПЭ у русских					
Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FDR
AAGCACA,MIR-218	398	11	2.034	0.019	1.000
TTGGGAG,MIR-150	90	4	3.271	0.034	1.000
CTGAGCC,MIR-24	231	7	2.230	0.037	1.000
GAGCCTG,MIR-484	108	4	2.726	0.059	1.000
CTCAAGA,MIR-526B	75	3	2.944	0.082	1.000
GGCACCT,MIR-519E	124	4	2.374	0.088	1.000
GCATTTG,MIR-105	175	5	2.103	0.089	1.000
TAGAACC,MIR-182	38	2	3.874	0.094	1.000
AGGGCCA,MIR-328	80	3	2.760	0.095	1.000
CTCCAAG,MIR-432	83	3	2.660	0.103	1.000
Категории миРНК для ДЭГ при ФБ и ПЭ у бурят					
Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FDR
ACTGTGA,MIR-27A,MIR-27B	474	25	1.941	0.001	0.224
AACTGAC,MIR-223	96	8	3.067	0.004	0.361
AAGCACA,MIR-218	398	20	1.849	0.006	0.361
CCACACA,MIR-147	63	6	3.505	0.007	0.361
TTTTGAG,MIR-373	225	13	2.126	0.008	0.361
TGGTGCT,MIR-29A,MIR-29B,MIR-29C	521	23	1.625	0.014	0.508
ACATTCC,MIR-1,MIR-206	300	15	1.840	0.016	0.508
ACCGAGC,MIR-423	8	2	9.200	0.018	0.508
CATGTAA,MIR-496	175	10	2.103	0.021	0.508
TGCCTTA,MIR-124A	551	23	1.536	0.025	0.558

Подводя итог к разделу, посвященному сравнению экспрессионных профилей русских и бурят, необходимо отметить, что 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 транскриптомного профиля ДК. В связи с чем, в работе был выполнен анализ вариабельности экспрессии генов как на уровне популяций, так и на уровне индивидуумов, а также проведена оценка действия естественного отбора на гены, транскрибирующиеся в ДК.

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

Классификация генов по уровню экспрессии, а также идентификация ДЭГ не могут в полной мере отразить детали изменчивости генной экспрессии для конкретного индивида или популяции в целом. Более подробный анализ в этом контексте может дать распределение общей вариабельности транскриптома на внутрипопуляционную и межпопуляционную составляющие. С этой целью для каждого гена общая вариабельность в экспрессии была разделена на компоненты, отражающие внутрииндивидуальную, внутригрупповую (межиндивидуальную) и межгрупповую (межпопуляционную) дисперсию/изменчивость, как это было предложено в исследовании D. Hughes и соавторов (см. главу 2.5 Статистическая обработка). Далее для расчета показателя вариабельности как внутри, так и между группами мы использовали 2 подхода – первый был основан на расчете отношений дисперсии главных факторов (коэффициенты M^*t), тогда как в основе второго лежал расчет отношений суммы квадратов этих же факторов (коэффициенты N^*t). В настоящей работе модель применялась для характеристики популяций русских и бурят, включавших индивидов с ФБ и ПЭ.

Анализ компонент Mst и Nst , характеризующих межгрупповую вариабельность в представленной выборке, свидетельствует о том, что доля межпопуляционных различий в выборке с ФБ составляет 6% и 4% соответственно (Таблица 3.14, Рисунки 3.23-3.24). Наряду с этим, при расчете данных параметров в группах с ПЭ можно наблюдать, что показатель

межгрупповой вариабельности N_{st} снизился до 1%, тогда как при расчете квадратов дисперсий вариабельность между группами составляла 10% от общей вариабельности экспрессии. Оценка внутривидовой изменчивости показывает снижение доли вариабельности среди индивидов в группах с осложненной беременностью ($M_{it} = 7\%$, $N_{it} = 46\%$) по сравнению с ФБ ($M_{it} = 30\%$, $N_{it} = 67\%$) (рисунки 3.23–3.24). Данная закономерность может находить объяснение в гипотезе о том, что проявление одного и того же патологического процесса ведет к снижению вариабельности на уровне больных индивидов в популяции, так как, по-видимому, будут задействованы схожие молекулярные пути и гены, что в свою очередь приведет к направленной ограниченной экспрессии определенных групп генов. Схожий эффект на геномных данных был ранее обнаружен при изучении ассоциаций полиморфных маркеров генов-кандидатов ПЭ в популяциях русских, якутов и бурят. Ворожищевой и коллегами было показано, что при анализе частот аллелей полиморфных маркеров генов, ассоциированных с ПЭ, в плоскости главных компонент, группы больных из всех трех популяций формируют отдельный субкластер, что свидетельствует об общности в наследственной структуре ПЭ [10].

Интересно отметить, что при расчете внутрииндивидуальной вариабельности с помощью оценок дисперсии (M_{et}) наблюдается значительное перераспределение всей вариабельности в пользу репликативных различий, что является отражением невысокой степени чувствительности такого подхода к оценке компонент вариабельности (Таблица 3.14). Сами авторы подхода также пришли к выводу, что более чувствительным методом для оценки вариабельности транскриптомных данных является расчет сумм квадратов соответствующих факторов (группового (A), индивидуального (B) и внутрииндивидуального (e)). В целом, значения всех перечисленных коэффициентов вариабельности для популяций русских и бурят с ФБ согласуются с оценками, полученными с использованием других популяционных выборок [121].

Таблица 3.14 – Среднее значение распределения коэффициентов, характеризующих внутри-, межиндивидуальную и межпопуляционную вариабельность транскриптома децидуальных клеток в изученных выборках

Коэффициенты на основе расчета дисперсий факторов				Коэффициенты на основе расчета сумм квадратов факторов				
Коэффициенты вариабельности	межпопуляционная	межиндивидуальная	внутрииндивидуальная	межпопуляционная	межиндивидуальная	внутрииндивидуальная	Расчетный коэффициент	Расчетный коэффициент
Обозначение коэффициента	Mst	Mit	Met	Nst	Nit	Net	Nis	Nig
ФБ русские и буряты	0.06	0.30	0.64	0.04	0.67	0.29	0.70	0.95
ПЭ русские и буряты	0.10	0.07	0.83	0.01	0.46	0.53	0.47	0.98

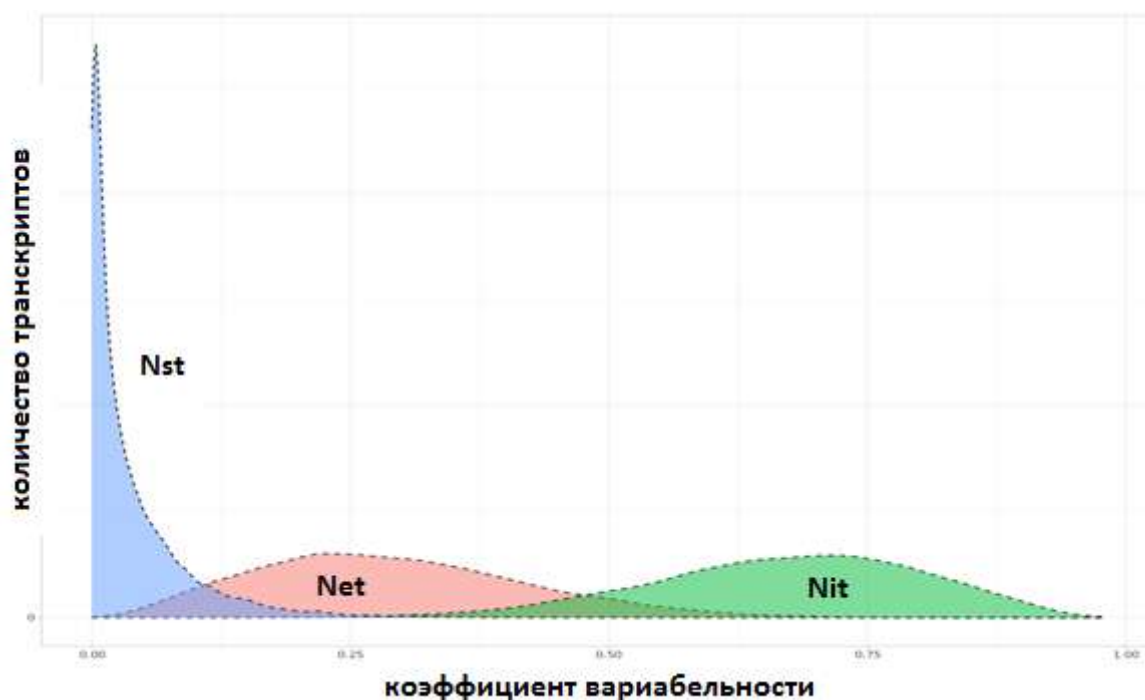


Рисунок 3.23 – Распределения вариабельности, полученные при анализе сумм квадратов (Nst – синий, Net – розовый и Nit – зеленый) для групп с ФБ.

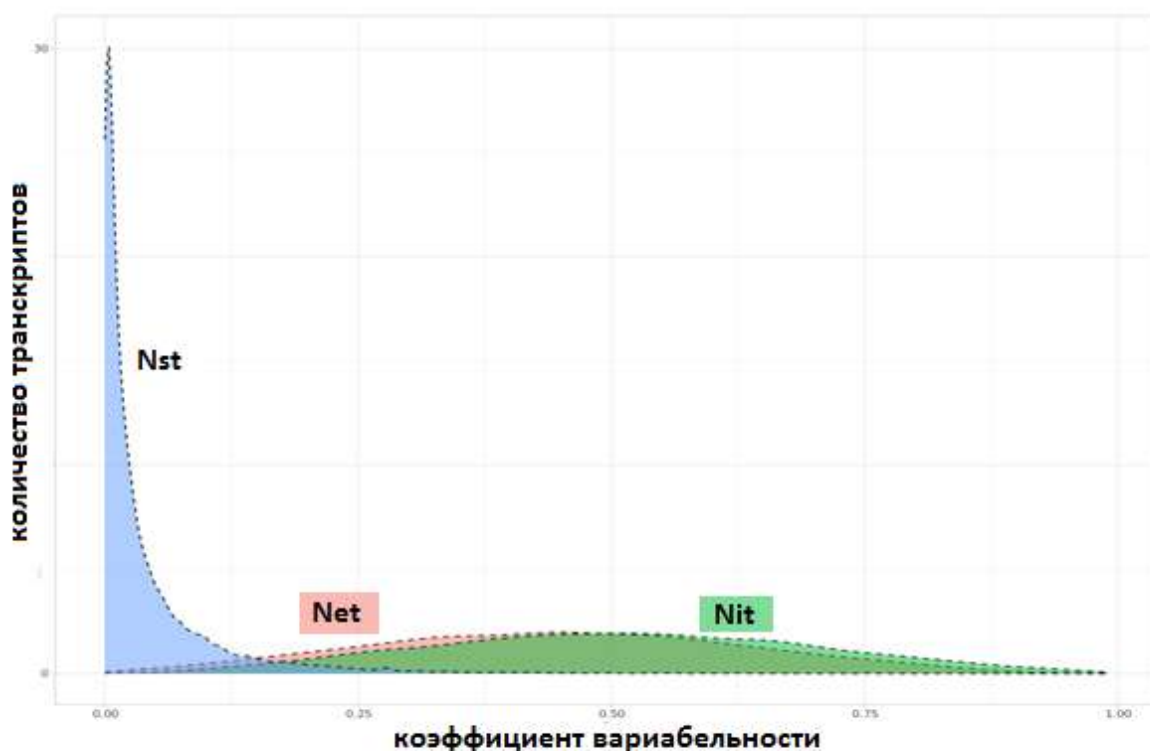


Рисунок 3.24 – Распределения вариабельности, полученные при анализе сумм квадратов (Nst – синий, Net – розовый и Nit – зеленый) для групп с ПЭ.

Чтобы охарактеризовать полученные данные по вариабельности и сопоставить с результатами, полученными при популяционных сравнениях (ДЭГ между русскими и бурятами) был выполнен анализ 500 транскриптов, обладающих наибольшей и наименьшей межпопуляционной вариабельностью (учитывались значения коэффициента Nst).

Так, наименьшей вариабельностью для исследованных образцов русских и бурят при ФБ обладали транскрипты, участвующие в процессах регуляции активности апоптотических ферментов (Таблица 3.15), тогда как наибольшие показатели вариабельности демонстрировали транскрипты, участвующие в процессах почечной фильтрации, а также регуляции АД, процессах, опосредованных белком TGFb, и передаче сигналов в клетке (Таблица 3.17). В группе с ПЭ минимальными значениями межпопуляционной вариабельности обладали транскрипты, участвующие в созревании РНК, процессах клеточного деления и репарации (Таблица 3.16), 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 (Таблица 3.18). Примечательно, что ранее, при функциональной аннотации ДЭГ при ФБ и ПЭ, указанные гены были сверхпредставлены в аналогичных категориях у русских, связанных с процессами метаболизма жирных кислот и липидов, мембранной поляризации и синаптической передачи сигналов, что дополнительно подчеркивает важную роль этих процессов при формировании патологического фенотипа у русских женщин. В качестве примера роли процессов поляризации в беременности можно отметить, что поляризация является ключевым фактором созревания и дифференцировки макрофагов (Мф). Наступление и успешное развитие беременности требует адаптацию материнского организма, включая установление соответствующего иммунного баланса, ведущую роль в котором играют децидуальные Мф. Эти клетки в большом количестве накапливаются в маточно-плацентарной зоне, где они взаимодействуют с другими децидуальными лейкоцитами и принимают участие в формировании иммунной толерантности. Благодаря уникальному микроокружению в матке Мф приобретают специализированный фенотип и участвуют во всех этапах беременности, включая имплантацию эмбриона, формирование плаценты, инвазию трофобласта, рост и развитие плода, а также инициацию родовой деятельности [165]. Нарушение механизмов, контролирующих баланс популяций M1-/M2- макрофагов и их функции в течение беременности, может способствовать развитию ряда осложнений, включая ПЭ, задержку роста плода, вплоть до гибели плода [7]. Такой измененный профиль, где преобладают провоспалительные макрофаги (M1) и снижена популяция противовоспалительных (M2) макрофагов, наблюдался в плаценте при моделировании ПЭ у крыс. Было показано, что такой дисбаланс в популяциях макрофагов может в свою очередь привести к дисфункции трофобластов и будет способствовать нарушению их инвазии и

ремоделирования спиральных артерий миометрия [240, 215, 164, 52]. Очевидной связью между процессами биосинтеза холестерина и ПЭ является влияние ожирения на течение беременности. Ожирение усиливает окислительный стресс, стимулирует воспалительную реакцию и способствует повреждению эндотелиальных клеток сосудов. Ожирение и преэклампсия имеют общие характеристики. При ожирении в организме человека развивается гиперинсулинемия, резистентность к инсулину, эндотелиальная дисфункция и воспалительная среда, характеризующаяся повышением уровня лептина, который специфически снижает пролиферацию цитотрофобластов и повышает артериальное давление (АД) [210, 145].

Стоит отметить, что категории биологических процессов, полученные при функциональной аннотации транскриптов с максимальными и минимальными значениями коэффициента межгрупповой вариабельности среди групп с ПЭ, не совпадали с категориями, характерными для ДЭГ, полученных при популяционных сравнениях, однако наблюдалось пересечение по категориям микроРНК, как в случае с ФБ (MIR-23A, MIR-23B, MIR-105), так и в случае с ПЭ (MIR-302C, MIR-31). Заболевания, связанные с MIR-23A, MIR-23B и MIR-105, как сообщается, в основном включают болезни сердца (гипертрофии) и опухоли. Среди связанных с ним путей – сигнальный путь Toll-подобного рецептора [10]. Врожденная иммунная система играет важную роль в нормальном протекании беременности и развитии плода. Однако патологическая активация этой системы может привести к дисфункции плаценты и способствовать развитию преэклампсии. Исследования сообщают, что чрезмерная стимуляция TLR рецепторов из-за вирусных или бактериальных инфекций может привести к неблагоприятным исходам беременности, включая преэклампсию [114, 118]. В экспериментах на крысах было показано, что активация TLR4 бактериальными полисахаридами способствуют ингибированию миграции трофобластов [119], тогда как активация TLR3 усиливает воспаление и приводит к развитию симптомов, подобных преэклампсии [120]. Для MIR-

302C и MIR-31, согласно данным литературы, была показана связь в отношении супрессии опухолей, в особенности хориокарцином и опухолей молочных желез и яичников [10].

Таблица 3.15 – Аннотация биологических категорий 500 транскриптов с минимальными значениями коэффициента Nst для группы с ФБ.

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FDR
GO:2000116	регуляция активности эндопептидазы цистеинового типа	229	18	3.701	<0.0001	0.018
GO:0010952	позитивная регуляция активности пептидазы	181	14	3.642	<0.0001	0.108
GO:0043281	регуляция активности эндопептидазы цистеинового типа, участвующей в процессе апоптоза	206	15	3.428	<0.0001	0.108
GO:0045862	позитивная регуляция протеолиза	343	19	2.608	<0.0001	0.250
GO:0040007	рост	961	38	1.862	<0.0001	0.250
GO:0060049	регуляция гликозилирования белков	14	4	13.451	<0.0001	0.250
GO:0010950	позитивная регуляция активности эндопептидазы	163	12	3.466	<0.0001	0.250
GO:2001056	позитивная регуляция активности эндопептидазы цистеинового типа	142	11	3.647	<0.0001	0.254
GO:0052547	регуляция активности пептидазы	418	21	2.365	<0.0001	0.254
GO:0052548	регуляция активности эндопептидазы	393	20	2.396	<0.0001	0.262

Таблица 3.16 – Аннотация биологических категорий 500 транскриптов с минимальными значениями коэффициента Nst для группы с ПЭ.

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FDR
GO:0006396	Процессинг РНК	887	35	1.890	<0.0001	1.000
GO:0051782	негативная регуляция клеточного деления	17	4	11.268	<0.0001	1.000
GO:0090594	воспалительная реакция на ранение	8	3	17.959	<0.0001	1.000
GO:0006289	нуклеотид-эксцизионная репарация	110	9	3.918	<0.0001	1.000
GO:0097709	трансформация соединительной ткани	9	3	15.964	0.001	1.000
GO:0006283	эксцизионная репарация нуклеотидов, связанная с транскрипцией	73	7	4.592	0.001	1.000
GO:0022613	биогенез рибонуклеопротеинового комплекса	440	20	2.177	0.001	1.000
GO:0016072	Метаболизм рРНК	236	13	2.638	0.001	1.000
GO:0006397	процессинг мРНК	487	21	2.065	0.001	1.000
GO:0006892	везикулярный транспорт в аппарате Гольджи	104	8	3.684	0.002	1.000

Интересным представляется то, что категории, ассоциированные с генами при болезни, также отражают ряд механизмов развития заболевания. Основным звеном ПЭ является патологическая плацентация на ранних сроках беременности, что связано с нарушением в процессах децидуализации эндотелиальных клеток, васкулогенеза, ангиогенеза и ремоделирования спиральных артерий. Предполагается, что в этих процессах ключевую роль играют феномены апоптоза и аутофагии [173]. При нормальной беременности рост и развитие плаценты поддерживаются регуляцией скорости апоптоза [139]. Однако при осложнениях, таких как преэклампсия, происходит чрезмерная скорость аутофагии и апоптоза трофобласта, это

свидетельствует о том, что регуляция гибели клеток может способствовать развитию заболевания [139]. В свою очередь дефекты при развии сосудистой сети будут приводить к нарушению питания, что будет способствовать деформациям плазматической мембраны, митохондриальной дисфункции, а также изменениям в экспрессии генов, метилирования ДНК и экспрессии миРНК.

Таблица 3.17 – Аннотация биологических категорий 500 транскриптов с максимальными значениями коэффициента Nst для группы с ФБ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0097205	почечная фильтрация	17	6	16.028	<0.0001	0.010
GO:0007179	сигнальный путь бета-рецептора трансформирующего фактора роста	182	15	3.743	<0.0001	0.055
GO:0003094	клубочковая фильтрация	16	5	14.191	<0.0001	0.055
GO:0017015	регуляция сигнального пути бета-рецептора трансформирующего фактора роста	109	11	4.583	<0,0001	0.061
GO:1903844	регуляция клеточного ответа на стимул трансформирующего фактора роста	111	11	4.500	<0.0001	0.061
GO:0007178	трансмембранный рецепторный белок серин/треонинкиназа сигнальный путь	328	20	2.769	<0.0001	0.064
GO:0071560	клеточный ответ на стимул трансформирующего фактора роста	231	16	3.145	<0.0001	0.072
GO:0071559	ответ на трансформирующий фактор роста бета	238	16	3.053	<0.0001	0.090
GO:0003071	процесс почечной системы, участвующий в регуляции системного артериального давления	23	5	9.872	<0.0001	0.122
GO:0090092	регуляция сигнального пути трансмембранного рецепторного белка	224	15	3.041	<0.0001	0.122

Таблица 3.18 – Аннотация биологических категорий 500 транскриптов с максимальными значениями коэффициента Nst для группы с ПЭ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0006281	Репарация ДНК	511	35	2.708	<0.0001	0.218
GO:0006302	Репарация двухцепочечных разрывов	218	4	3.750	<0.0001	0.218
GO:1990573	транспорт ионов калия через плазматическую мембрану	41	3	7.670	<0.0001	0.516
GO:0044281	Метаболизм малых молекул	1960	9	1.604	<0.0001	0.516
GO:0060074	формирование синапсов	24	3	10.482	0.001	0.516
GO:0006790	Метаболизм серосодержащих соединений	354	7	2.665	0.001	0.516
GO:0045540	регуляция биосинтеза холестерина	43	20	7.313	0.001	0.516
GO:0106118	регуляция биосинтеза стеролов	43	13	7.313	0.001	0.516
GO:0010107	Транспорт ионов калия	46	21	6.836	0.001	0.516
GO:0007176	регуляция активности рецепторов, активируемых эпидермальным фактором роста	27	8	9.317	0.001	0.516

3.4 Выявление сигналов не-нейтральной эволюции в транскриптоме децидуальных клеток

Роль естественного отбора в формировании свойств организмов долгое время выступала предметом споров, после того как Чарльз Дарвин выдвинул предположение, что организмы адаптируются к окружающей среде в результате действия сил отбора. Однако представление того, что большинство изменений на молекулярном уровне происходит благодаря силам отбора, было опровергнуто появлением теории нейтральной молекулярной эволюции Мото Кимура в 1983 году [144]. Эта теория утверждает, что подавляющее большинство различий (в геноме), наблюдаемых внутри и между видами, а также их фиксация являются, прежде всего, результатом стохастических процессов. В данной работе

определяется степень влияния направленных сил эволюции на транскриптом человека в результате поиска сигналов не-нейтральной эволюции в транскриптоме децидуальных клеток плаценты.

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 скорее идентифицирует гены, которые демонстрируют профили экспрессии, соответствующие отбору по количественным признакам [294, 293]. Согласно модели, признаки, подвергающиеся направленному отбору, будут демонстрировать сдвиги в средней экспрессии между группами и во многом будут пересекаться с ранее идентифицированными ДЭГ. Для балансирующего отбора характерно высокое разнообразие (вариабельность) генной экспрессии среди индивидов в пределах популяции, и низкая дисперсия между популяциями. Стабилизирующий отбор приводит к снижению вариабельности экспрессии среди индивидов, в то время как дизруптивный отбор характеризуется увеличением дисперсии в экспрессии между индивидами.

Используя модели, разработанные для каждого вида отбора, было 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 виды отбора, которые влияют приблизительно на 1.0% всех генов (167 и 183 гена соответственно) и дизруптивный отбор, сигналы которого были обнаружены в 0.9% транскриптома (149 генов) (Рисунок 3.25).

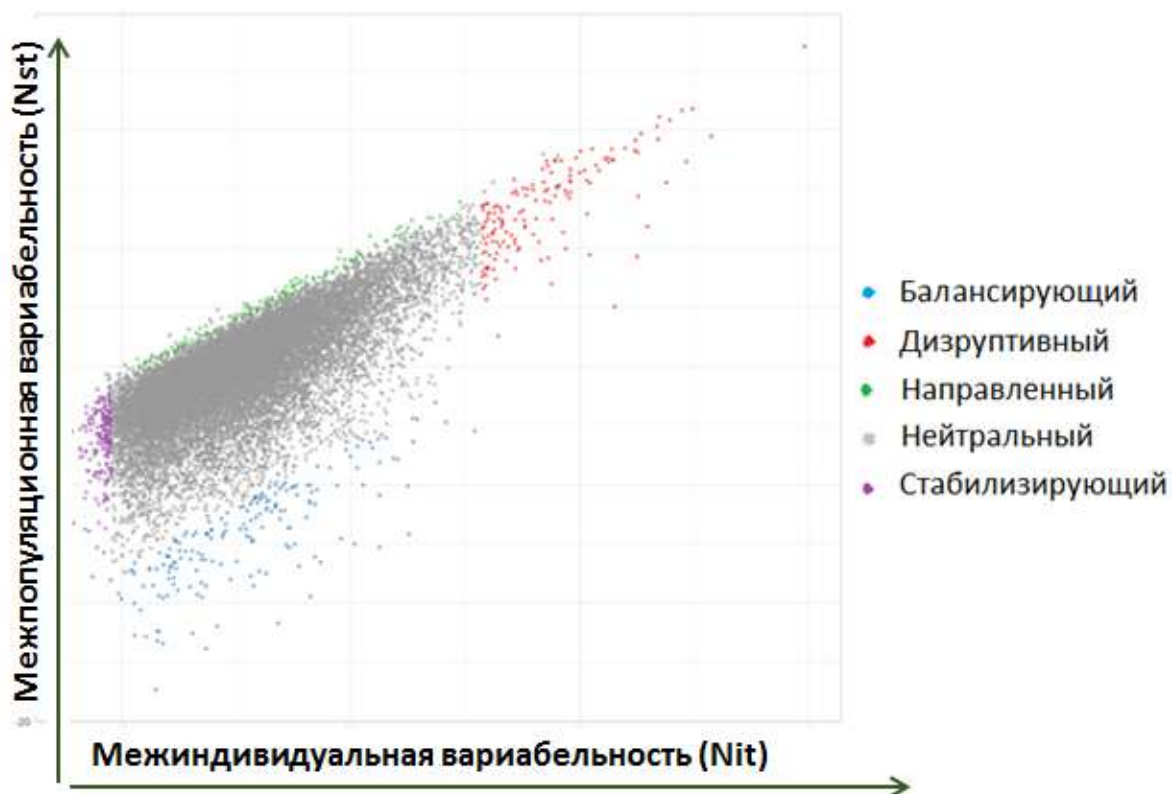


Рисунок 3.25 – Точечная диаграмма, отражающая вариабельность между группами и индивидами с физиологической беременностью, определяемую логарифмом соответствующей суммы квадратов. Гены, которые были идентифицированы как имеющие профиль вариабельности, соответствующий нейтральности, а также направленному, дизруптивному, стабилизирующему или балансирующему отбору, обозначены цветом.

В соответствии с полученными оценками, для пациенток с ПЭ самыми распространенными типами отбора выступили балансирующий, действующий на 189 генов (1.1%), и стабилизирующий отбор, признаки которого были выявлены у 179 генов (1.1%). С сигналами направленного и дизруптивного отбора было идентифицировано 153 и 156 гена соответственно (0.9%) (Рисунок 3.26).

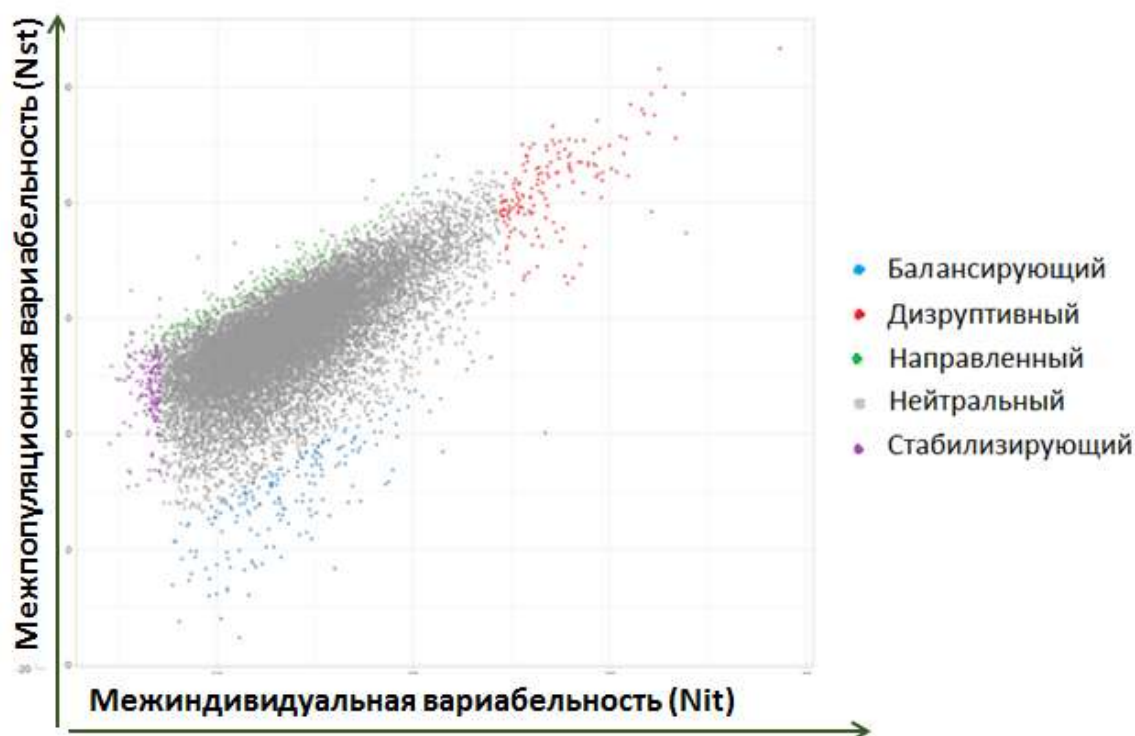


Рисунок 3.26 – Точечная диаграмма, отражающая изменчивость между группами и индивидами с преэклампсией, определяемую логарифмом соответствующей суммы квадратов. Гены, которые были идентифицированы как имеющие профиль изменчивости, соответствующий нейтральности, а также направленному, дизруптивному, стабилизирующему или балансирующему отбору, обозначены цветом.

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. 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 $p < 0.001$). 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 (таблица 3.19).

Таблица 3.19 – Аннотация биологических категорий транскриптов ДЭГ, демонстрирующих сигналы отбора в транскриптоме децидуальных клеток

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FDR
GO:0030198	организация внеклеточного матрикса	347	8	5.735	<0.001	0.663
GO:0043062	организация внеклеточной структуры	400	8	4.975	<0.001	0.883
GO:0009888	развитие ткани	1925	18	2.326	<0.001	0.930
GO:0033273	реакция на витамин	89	4	11.180	<0.001	0.930
GO:0008283	пролиферация клеток	1986	18	2.254	0.001	0.930
GO:0031103	регенерация аксона	43	3	17.354	0.001	0.930
GO:0009629	реакция на гравитацию	11	2	45.227	0.001	0.930
GO:0009611	ответ на ранение	642	9	3.487	0.001	0.930
GO:0042127	регуляция клеточной пролиферации	1564	15	2.386	0.001	0.930
GO:0031102	регенерация нейронов	52	3	14.351	0.001	0.930

Также при аннотации по базе данных «DisGeNet» было 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. Эклампсию диагностируют при возникновении

у беременной с ПЭ судорожного приступа или серии судорожных приступов, которые не могут быть вызваны другими причинами (эпилепсия, инсульт, опухоль головного мозга и др.). Эклампсия является абсолютным доказательством предшествующей тяжелой ПЭ и/или ее самых опасных осложнений (HELLP-синдром, острая почечная недостаточность, отек головного мозга, нарушение внутримозгового кровотока ишемического и геморрагического характера). Синдром HELLP характеризуется массивным гемолизом, повышением уровня печеночных ферментов и снижением фракции тромбоцитов. Риск развития синдрома HELLP во время беременности колеблется от 0.2% до 0.8%, при этом уровень смертности составляет 0-24% [236, 187, 275]. Перинатальная смертность достигает 37% [187, 275]. Это связано с повышенным риском тяжелых осложнений как для матери, так и для ребенка [1]. Считается, что в патогенезе синдрома HELLP играет роль воспалительная реакция в оси плацента-печень [236]. Функция печени у пациенток с HELLP улучшается в течение 6 недель после родов, что свидетельствует о том, что плацента является основным местом, ответственным за нарушение функций печени [122]. Плацентарные факторы и вазоактивные вещества вызывают усиление воспалительного процесса и повреждение эндотелия, что приводит к синдрому синусоидальной обструкции (SOS) [36]. Считается, что повреждение эндотелия печени ответственно за обструкцию эритроцитами пространства Диссе, области между синусоидальными эндотелиальными клетками печени и гепатоцитами [275]. Это приводит к усиленному образованию микротромбов, ишемии гепатоцитов и в конечном итоге к печеночной недостаточности [187]. До сих пор не установлена генетическая причина повышенного риска синдрома HELLP. Вероятный этиологический механизм представлен совместным действием нескольких вариантов генов с дополнительным воздействием факторов со стороны организма матери, а также факторов окружающей среды. Недавние исследования показали, что варианты генов *Fas* и *VEGF*, а также мутация V фактора свертывания Лейден связаны с повышенным

риском развития HELLP по сравнению со здоровыми женщинами [122]. Также есть свидетельства, что некоторые варианты гена рецептора глюкокортикоидов и гена Toll-подобного рецептора повышают риск синдрома HELLP [275]. Здесь необходимо отметить, что, как и ПЭ, эклампсия и HELLP-синдром являются своего рода факторами, ограничивающими численность популяции, которые, в итоге, приводили бы к элиминации неблагоприятных генетических сочетаний.

Чтобы дополнительно охарактеризовать обозначенные 114 транскриптов, отдельно были выделены гены, которые демонстрировали сигналы разных типов отбора. Так, 75 генов из числа дифференциально экспрессирующихся при ФБ и ПЭ также демонстрировали сигналы направленного отбора: 35 генов в группе с ФБ и 40 генов в группе с ПЭ, что составило 21% и 25.3% от общей доли генов с сигналами направленного отбора (Рисунок 3.27). Сигналы балансирующего отбора демонстрировали всего 8 генов из числа ДЭГ (*PTGS2*, *RPTOR*, *SNORA7B* в группе с ФБ и *RGS17*, *CEPT1*, *ZNF300*, *MUC16*, *LINC01376* в группе с ПЭ), что составило около 2% от общего числа транскриптов с сигналами балансирующего отбора. Под действием стабилизирующего отбора находилось 17 ДЭГ, при этом 7 генов были характерны для здоровых индивидов, 6 генов для больных ПЭ и 2 транскрипта, кодирующих РНК-псевдогены явились общими как для групп с ФБ, так и для группы с ПЭ. Общая доля дифференциально экспрессирующихся транскриптов с сигналами стабилизирующего отбора составила около 2.5% от числа всех генов, находящихся под стабилизирующим отбором. Из всех генов с сигналами дизруптивного отбора 10% (в группе с ФБ) и 7% (в группе с ПЭ) изменяли свой уровень экспрессии при групповых сравнениях русских и бурятских женщин с ФБ и ПЭ. Таким образом, основным типом отбора, который присущ генам, ассоциированным с болезнью, является направленный отбор.

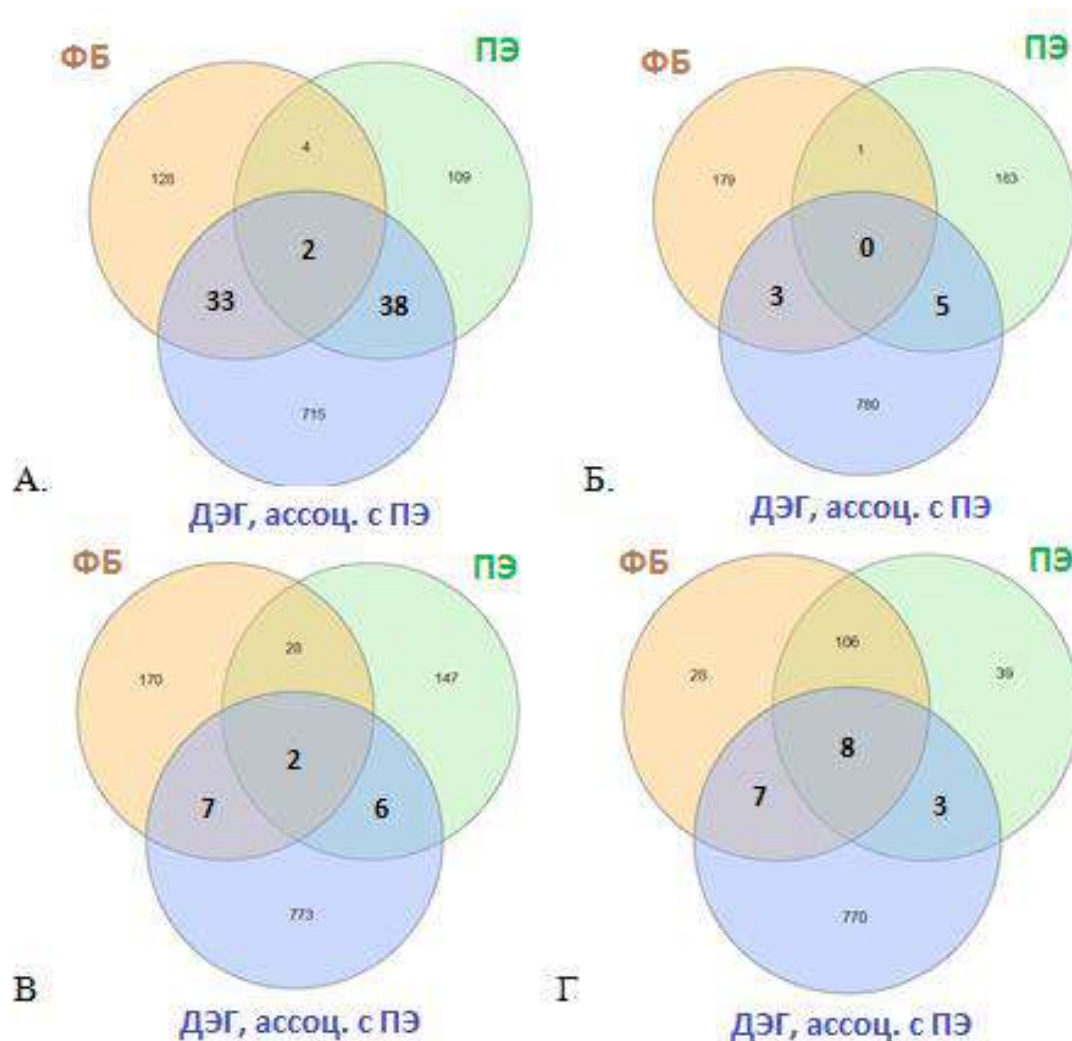


Рисунок 3.27 – Диаграммы Венна, отражающие пересечения генов с сигналами (А) направленного, (Б) балансирующего, (В) стабилизирующего и (Г) дизруптивного отбора в популяциях при ФБ и ПЭ с ДЭГ, полученными при попарных сравнениях больных и здоровых женщин в популяциях русских и бурят.

Интересно отметить, что в настоящей работе были найдены транскрипты, ассоциированные с развитием ПЭ, которые демонстрировали сигналы отбора как при анализе групп с ФБ, так при анализе групп с ПЭ. Ими явились 12 генов: *HMGCS1*, *NBPF19*, *RN7SL678P*, *RN7SL230P*, *SPARC*, *SPP1*, *SAT1*, *COL5A1*, *MT-CYB*, *MT-ND4*, *DIO2*, *RN7SL1*, для которых, согласно базе данных «DisGeNet», показана значимая связь ($FDR = 0,041$) с синдромом уремии (C0041948), возникающим вследствие снижения функциональной активности почек. Было показано, что беременность является частым триггером для развития акушерского атипичного

гемолитико-уремического синдрома, одной из форм тромботической микроангиопатии, в случае высокого риска развития ПЭ и острого повреждения почек [13,135]. Атипичный гемолитический уремический синдром (аГУС) характеризуется крайне высокой материнской и младенческой смертностью, что, вероятно, является важным фактором, определяющим действие естественного отбора в данном случае.

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

Для оценки биологической значимости транскриптов, соответствующих четырем моделям отбора, был проведен анализ обогащения и установлены основные функциональные пути KEGG, характерные для полученного кластера генов в соответствующем фенотипе. Таблицы с аннотацией функциональных категорий, сверхобогащенных транскриптами, демонстрирующими сигналы четырех типов отбора, представлены в приложении Б.

При сравнении аннотаций транскриптов для групп с ФБ и ПЭ, находящихся под действием направленного отбора, можно отметить отсутствие общих категорий биологических процессов. Отличительными категориями для группы с ФБ явились процессы регуляции синтеза и метаболизма холестерина, стеролов и стероидных соединений (Таблица Б1). Уникальными категориями для транскриптов, для которых было зафиксировано действие направленного отбора при ПЭ, выступили пути трансмембранной передачи сигналов посредством рецепторов, процессы фосфорилирования и фолдинга белков (Таблица Б2).

Анализ обогащения транскриптов, демонстрирующих действие балансирующего отбора в группе с ФБ, свидетельствует о вовлечении разнообразных групп процессов: метаболизма белков, клеточного цикла, развития нервных структур, синаптического сигналинга и окислительно-

восстановительные реакции (Таблица Б3). Примечательно, что для генов, находящихся под влиянием балансирующего отбора в группе женщин с ПЭ, отмечается сильное обогащение категориями процессов, отвечающих за транспорт меди, регуляцию трансляционного и регенеративного аппаратов клетки, дифференцировку дендритных клеток (Таблица Б4).

Наибольший коэффициент обогащения для генов, для которых было выявлено действие стабилизирующего отбора при ФБ, демонстрировали процессы мейоза и транскрипции РНК в митохондриях, в то время как при ПЭ преобладали категории транспорта органических молекул и митотические процессы клетки (Таблицы Б5-Б6).

Хочется отметить, что только при анализе транскриптов, находящихся под силами дизруптивного отбора, были получены функциональные категории, преодолевшие порог поправки на множественные сравнения ($FDR < 0.05$). В целом, по результатам аннотации наблюдается схожий профиль как для ФБ, так и для ПЭ. Так, под влиянием дизруптивного отбора находились процессы организации внеклеточного матрикса, клеточной адгезии, созревания белка и развития сердечно-сосудистой и кровеносной систем организма (Таблицы Б7-Б8). Общность биологических процессов, в которых принимают участие гены, для которых было зафиксировано действие дизруптивного отбора при разных фенотипах, отражает то, что именно эти гены отвечают за популяционную дифференциацию русских и бурят, тогда как на гены, связанные с ПЭ, действовали преимущественно другие типы отбора.

Необходимо подчеркнуть, что категории биологических путей для транскриптов, демонстрирующих сигналы направленного отбора, пересекаются с категориями, ранее выявленными при анализе ассоциированных с развитием ПЭ генов, что может свидетельствовать о преимущественном вкладе направленного отбора в патогенетические процессы при ПЭ.

Также дополнительно была проведена характеристика биологических путей, связанных с общими и популяционно специфичными транскриптами, демонстрирующими сигналы отбора в транскриптом ДК (рисунок 3.28, таблица 3.20) и был проанализирован генный состав, на основе которого определялась функциональная категория биологического процесса.

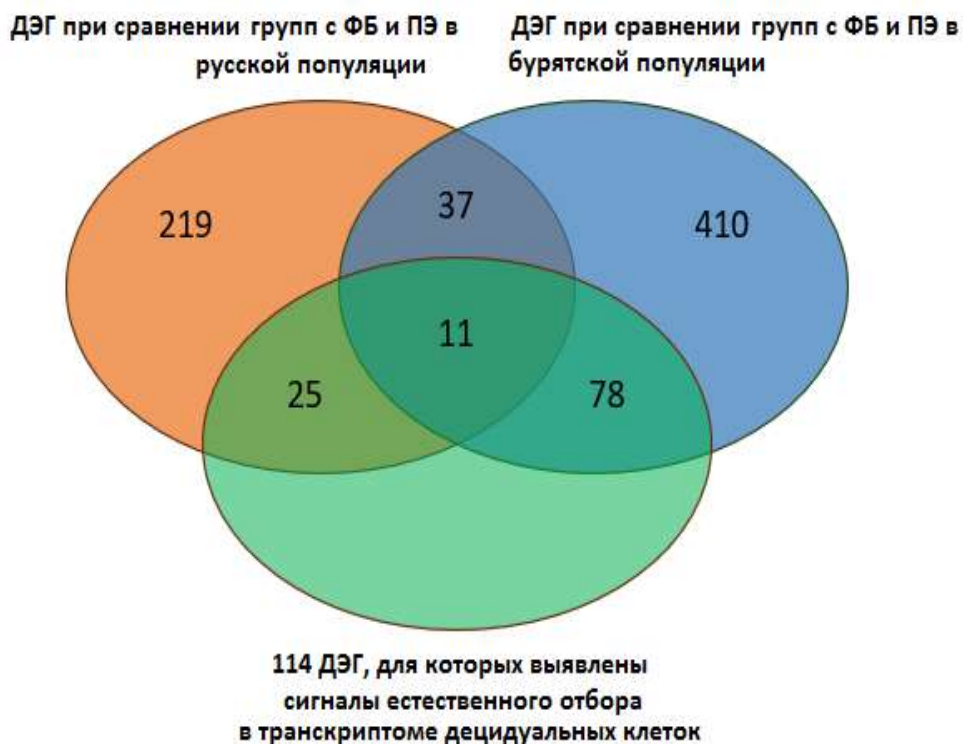


Рисунок 3.28 – Диаграмма Венна, описывающая общие и популяционно-специфичные гены, ассоциированные с развитием ПЭ, для которых также было зафиксировано действие факторов естественного отбора.

Таблица 3.20 – Аннотация биологических категорий, связанных с популяционно-специфичными транскриптами, демонстрирующими сигналы отбора в транскриптом ДК

Функциональные категории, полученные для кластера генов, демонстрирующих также сигналы естественного отбора в русской популяции						
Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0032496	реакция на липополисахарид	317	3	10,51	0,00	1.000

Продолжение таблицы 3.20.

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:003273	реакция на витамины	89	2	24,97	0,00	1.000
GO:0002237	реакция на бактерии	330	3	10,10	0,00	1.000
GO:0010595	позитивная регуляция миграции эндотелиальных клеток	95	2	23,39	0,00	1.000
GO:0032963	метаболизм коллагена	97	2	22,91	0,00	1.000
GO:0045112	биосинтез интегрина	5	1	222,21	0,00	1.000
GO:1902219	негативная регуляция апоптотического сигнального пути	5	1	222,21	0,00	1.000
Функциональные категории, полученные для кластера генов, демонстрирующих также сигналы естественного отбора в бурятской популяции						
Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0009888	образование тканей	1925	15	2,65	0,00	1.000
GO:0018193	аминокислотные модификации	1212	11	3,09	0,00	1.000
GO:0050651	Биосинтез дерматансульфата	15	2	45,35	0,00	1.000
GO:0050655	метаболизм дерматансульфата	16	2	42,52	0,00	1.000
GO:0008283	пролиферация клеток	1986	14	2,40	0,00	1.000
GO:0042127	регуляция пролиферации клеток	1564	12	2,61	0,00	1.000
GO:0030206	биосинтез хондроитинсульфата	25	2	27,21	0,00	1.000
GO:0009101	биосинтез гликопротеинов	325	5	5,23	0,00	1.000

Согласно функциональной аннотации, транскрипты, демонстрирующие сигналы отбора в русской популяции, ассоциированы с межклеточными сигналингом, процессами миграции эндотелиальных клеток и апоптозом. В тоже время для кластера транскриптов с сигналами отбора в популяции бурят характерна сверхпредставленность в категориях, связанных с клеточной

пролиферацией и формированием тканей. При аннотации кластера транскриптов, общих для русской и бурятской популяции, для которых было зафиксировано действие естественного отбора в транскриптоме децидуальных клеток, не было получено значимых функциональных категорий.

Интересно отметить, что для кластера ассоциированных с ПЭ транскриптов, специфичных для русской популяции, аннотация биологических категорий позволила выделить наиболее функционально-значимые гены: *PTGS2*, *SPARC* и *COL5A1*. Роль коллагена 5 типа (*COL5A1*) в патогенезе ПЭ связана с нарушением процессов ангиогенеза и ранее уже была описана, так как при сетевом анализе *COL5A1* являлся главным функционально-активным геном. Ген простагландин-эндопероксидсинтазы 2 (*PTGS2*), также известный как циклооксигеназа 2 типа (*COX2*), представляет собой фермент, участвующий в превращении арахидоновой кислоты в простогландин [146]. Экспрессия *COX2* низкая и в основном ограничена мозгом, тимусом, кишечником, почками и плацентой. Медиаторы воспаления, ядерный фактор-κВ (*NF-κB*), эндотелин (*ET1*) и гипоксия являются ключевыми факторами повышения экспрессии этого гена [137]. Было высказано предположение, что *COX2* играет регуляторную роль при инвазии клеток трофобласта человека, так как ингибирование *COX2* способствовало ингибированию инвазивной способности трофобласта за счет модулирования активности фактора *TGFB* [255, 231, 192]. На мышинных моделях было показано, что особи с нокаутом *COX2* были бесплодны, отдаленно у них развивалась нефропатия, приводящая к гибели [231]. Ассоциация пониженной экспрессии гена циклооксигеназы 2 с ПЭ была установлена также при анализе блоков коэкспрессирующихся генов (WGCNA), где главными генами (hub genes) выступили *PLA2G7* и *PTGS2*. Дальнейший анализ ROC-кривой определил *PLA2G7* и *PTGS2* в качестве потенциальных биомаркеров для диагностики ПЭ [57]. Ген *SPARC* кодирует белок, необходимый для кальцификации коллагена в кости, также он

участвует в синтезе внеклеточного матрикса и при деформации формы клетки [267]. Работу данного гена связывают с процессами инвазии трофобласта. Существующее исследование выявило значительно более низкую экспрессию *SPARC* в плаценте с ПЭ по сравнению с нормальной плацентой на поздних сроках беременности [310].

Наиболее представленными генами в категориях транскриптов, ассоциированных с ПЭ у бурятских женщин, выступили член семейства *Ras*-киназ *RHOA*, который дополнительно выступил главным геном при анализе сети кластера всех ДЭГ у бурят, а также гены *JAK2* и *HMGN1*. Известно, что *HMGN1* высоко экспрессируется в децидуальной оболочке и принимает участие в клеточной дифференцировке, в том числе в процессе децидуализации стромальных клеток эндометрия и созревания децидуальных клеток [160]. Показано, что в норме по мере прогрессирования децидуализации экспрессия *HMGN1* постепенно возрастает, сверхэкспрессия *HMGN1* эффективна для повышения пролиферации стромальных клеток эндометрия, тогда как ингибирование *HMGN1* с помощью специфической миРНК будет приводить к снижению пролиферации стромальных клеток и нарушению процессов децидуализации, что в свою очередь ведет к развитию дисфункции эндотелия и предрасполагает к развитию ПЭ [287, 160]. *JAK/STAT3* является важным сигнальным путем, который участвует во многих биологических процессах, включая пролиферацию клеток, воспалительную реакцию, иммунный ответ и рак. Было обнаружено, что сигнальный путь *JAK2/STAT3* играет роль в поддержании плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток. Кроме того, было продемонстрировано, что сигнальный путь *JAK/STAT* активен в клетках трофобласта и может способствовать возникновению ПЭ [216, 282]. Н. Qu с соавторами показали на примере клеток вневорсинчатого трофобласта, что *HIF-3α* может ингибировать сигнальный путь *JAK/STAT* и таким образом способствовать развитию ПЭ [216]. В другом исследовании выяснили, что

путь JAK/STAT3 также может активироваться при гипоксии и будет способствовать инвазии трофобласта и процессам ангиогенеза [307].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что силы естественного отбора в процессе эволюции действовали на гены, важные для биологии плаценты, отвечающие за ее формирование, развитие сосудистой сети и организацию иммунологического микроокружения – основополагающие процессы для нормального протекания беременности, дисфункцию которых можно рассматривать как субстрат для возникновения ПЭ.

В завершение раздела, посвященного оценке вклада эволюционных сил в формирование транскриптомов, характерных для рассматриваемых групп русских и бурят при ФБ и ПЭ, стоит отметить, что стабилизирующий отбор явился наиболее представленным. Данный вид отбора действовал приблизительно на 2.5% всех транскриптов и обуславливал изменения в экспрессии генов, вовлеченных в процессы клеточного деления, клеточного цикла, метаболизма белков, развития нервных структур, синаптического сигналинга. Направленный отбор, согласно оценке, вносил 1-1.5% в изменчивость транскриптома среди групп. Гены, для которых было зафиксировано влияние направленного отбора, принимают участие в трансмембранной передаче сигналов, процессах фосфорилирования и фолдинга белков. Балансирующий отбор в транскриптоме децидуальных клеток русских и бурятских женщин, в общем, обуславливает около 1% изменчивости, что может находить отражение в процессах метаболизма белков, клеточного цикла, развития нервных структур. Менее одного процента транскриптома ДК находилось под влиянием сил дизруптивного отбора и было задействовано в процессах организации внеклеточного матрикса, клеточной адгезии, созревания белка и развития сердечно-сосудистой и кровеносной систем организма.

Таким образом, показано, что большая часть вариабельности экспрессии генов децидуальных клеток согласуется с моделью нейтрального дрейфа, а под влиянием отбора находятся 4.5% генов транскриптома. При

характеристике генов, находящихся под влиянием сил не-нейтральной эволюции в транскриптом децидуальных клеток установлено, что ассоциированные сигнальные пути и фенотипы, характерные для каждого типа отбора имеют первостепенное значение для биологии плаценты, роста и развития плода, а нарушение функционирования идентифицированных процессов связано с основными диагностическими критериями ПЭ или с наиболее тяжелыми вариантами течения данной патологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании впервые охарактеризованы полногеномные экспрессионные профили децидуальных клеток при неосложненной беременности и преэклампсии русских и бурятских женщин, а также осуществлен поиск сигналов естественного отбора в транскриптоме изученных клеток при патологической и физиологической беременности. Также 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 децидуальных клеток в обследованных группах позволил выявить статистически значимые различия транскриптомного профиля при сравнении здоровых и больных индивидов из популяционных выборок русских и бурят. Установлено, что изменения в транскрипционном профиле, связанные с патологическим процессом при преэклампсии в децидуальных клетках у русских, находят отражение 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. Кроме того, в плацентарной ткани при преэклампсии обнаружены изменения в липидном профиле, главным образом, затрагивающие большинство фракций фосфолипидов (фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилхолин), изменение количества которых способствует развитию и прогрессированию акушерской патологии за счет нарушения структуры и свойств биомембран, что приводит к аномальному регулированию передачи сигнала и путей активации иммунитета, а также воспалительной реакции. В свою очередь, нарушение

метаболизма жирных кислот и их производных показано для женщин с преэклампсией в сторону увеличения атерогенных триглицеридов низкой плотности и снижению концентрации липопротеинов высокой плотности, что способствует атерогенезу и дисфункции спиральных артерий.

Было показано, что изменения экспрессионного профиля децидуальных клеток у бурятских женщин в результате преэклампсии затрагивают сигнальный путь клеточного апоптоза, пути регуляции биосинтеза и процессов транскрипции, а также процессы дифференцировки костных, хрящевых и эпителиальных клеток (клетки соединительной ткани), необходимых для нормального роста и развития организма. Эффекты нарушения экспрессии генов, связанных с вышеперечисленными процессами, будут иметь последствия, как для материнского организма, так и для организма плода. 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.

Таким образом, при сравнениях здоровых и больных индивидов можно отметить характерную для профиля бурят большую вовлеченность процессов клеточного роста, дифференцировки, что подтверждается высокой экспрессионной активностью связанных с ними генов. Для русских женщин отличительной чертой транскриптомного профиля децидуальных клеток явились процессы поляризации мембран и метаболизма жирных кислот. В обоих случаях прослеживается большая активность генов, которые, так или иначе, влияют на формирование структур соединительных и нервных тканей в процессе беременности.

При популяционных сравнениях русских и бурят с физиологической беременностью выявлено 282 гена среди контрольных групп, которые изменяют свой уровень экспрессии в зависимости от популяционной принадлежности. По результатам функциональной аннотации активность данных генов проявляется в процессах синтеза интерлейкинов и регуляции их активности, в сигнальных процессах, в том числе при передаче нервных импульсов, а также в процессах активации и дифференцировки фибробластов.

Результаты попарного сравнения транскриптомных профилей децидуальных клеток русских и бурятских женщин с тяжелой формой преэклампсии выделяют 440 генов, отвечающих за популяционное разнообразие в рассматриваемой выборке. Анализ обогащения свидетельствует об активности идентифицированных дифференциально экспрессирующихся генов преимущественно в процессах, связанных с активацией эстрогенового рецептора, установления клеточного компартмента, активностью мембранных белков, клеточного ответа на раздражитель и транскрипцией мРНК в ядре.

Таким образом, можно отметить, что для нормальной беременности и для преэклампсии задействованы разные биологические процессы, участвующие в популяционной дифференциации русских и бурят. Общими для двух фенотипов (физиологическая беременность и преэклампсия) выступили процессы регуляции синтеза и метаболизма липидов, стероидов, эфиров, а также процессы развития клубочковых структур почек.

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 (Nst) 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 внутрипопуляционной изменчивости была меньше ($Nit=46\%$), чем данный показатель в группе с физиологической беременностью ($Nit=67\%$). Полученные результаты укладываются в гипотезу академика РАН, д.б.н. Степанова В.А. о том, что проявление одного и того же патологического процесса ведет к снижению вариабельности на уровне индивидов в популяции, в связи с активацией схожих механизмов патологического процесса [21], в результате чего дисперсия в экспрессии генов-участников становится ниже, чем это могло бы наблюдаться при здоровой беременности.

Также актуальным является раздел исследования, посвященный поиску факторов не-нейтральных сил эволюции в структуре транскриптома децидуальных клеток плаценты у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией. Было 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 были 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 большой роли направленных сил эволюции при формировании транскриптомного профиля децидуальных клеток, характерного для пациенток с преэклампсией по сравнению с женщинами с физиологической беременностью. Стоит отметить, что среди генов транскриптома децидуальных клеток, для которых было зафиксировано действие естественного отбора, преобладали транскрипты с сигналами стабилизирующего отбора, что согласуется с данными, полученными при анализе регуляторных участков генома [19]. Данный вид отбора действовал

приблизительно на 2.5% всех транскриптов и обуславливал изменения в экспрессии генов, вовлеченных в процессы клеточного деления, клеточного цикла, метаболизма белков, развития нервных структур, синаптического сигналинга. Гены, для которых было установлено влияние направленного отбора, согласно оценке, вносят 1-1.5% в изменчивость транскриптома среди групп и принимают участие в трансмембранной передаче сигналов, процессах фосфорилирования и фолдинга белков. Балансирующий отбор в транскриптоме децидуальных клеток русских и бурятских женщин, в общем, обуславливает около 1% изменчивости генов, вовлеченных в процессы, метаболизма белков, клеточного цикла, развития нервных структур. Менее одного процента транскриптома ДК находилось под влиянием сил дизруптивного отбора, и было задействовано в процессах организации внеклеточного матрикса, клеточной адгезии, созревания белка и развития сердечно-сосудистой и кровеносной систем организма. Необходимо подчеркнуть, что категории биологических путей для транскриптов, демонстрирующих сигналы направленного отбора, пересекаются с категориями, ранее выявленными при анализе генов, ассоциированных с развитием ПЭ у женщин русской и бурятской популяции. Это может свидетельствовать о преимущественном влиянии направленного отбора на потогенетические механизмы при преэклампсии.

Таким образом, проведенный в диссертационной работе, детальный анализ транскриптома кластера децидуальных клеток с целью поиска популяционных особенностей и сигналов не-нейтральной эволюции в формировании наследственной предрасположенности к заболеванию расширяет представления о молекулярных механизмах преэклампсии.

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 внутривнутрипопуляционной 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 СОКРАЩЕНИЙ

bp - (base pare) пар оснований

CNV – (copy number variation) вариация числа копий

CPM – количество прочтений на миллион

CEU – европеиды (штат Юта, США)

CHB – китайцы (г. Пекин)

CHS – китайцы (Южный Китай)

FC – (fold change) кратность изменения уровня экспрессии гена

FIN – финны (Финляндия)

F_{ST} – индекс фиксации Райта

GBR – британцы (Англия и Шотландия)

GWAS – (genome-wide association study) полногеномное исследование ассоциаций

JPT – японцы (г. Токио)

KEGG – Киотская энциклопедия генов и геномов (англ. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)

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

Met – коэффициент внутрииндивидуальной дисперсии ($\sigma^2 / \sigma^2 T$)

Mit – коэффициент межиндивидуальной дисперсии ($\sigma^2 B / \sigma^2 T$)

Mst – коэффициент групповой дисперсии ($\sigma^2 A / \sigma^2 T$)

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)

OR – (odds ration) отношение шансов

PCR – (polymerase chain reaction) полимеразная цепная реакция

Real-Time PCR – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

SNP – (single nucleotide polymorphism) однонуклеотидный полиморфный вариант

TaqMan-зонд – флуоресцентно меченый зонд

TCR – T-клеточный рецептор

Th1 – Т-хелперы 1 типа

Th2 –Т-хелперы 2 типа

Webgestalt – Набор инструментов для анализа генов SeT на веб-основе (англ. WEB-based Gene SeT AnaLysis Toolkit)

YRI – йоруба (г. Ибадан, Нигерия)

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ГСД – гестационный сахарный диабет

ДАД – диастолическое артериальное давление

ДК – децидуальные клетки

ДСК – децидуальные стромальные клетки

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДЭГ – дифференциально экспрессирующийся ген

ИМТ – индекс массы тела

Кб – килобаза (1000 пар нуклеотидов)

МР – ген мастер-регулятор

МФЗ – многофакторное заболевание

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЭ – преэклампсия

РНК – рибонуклеиновая кислота

САД – систолическое артериальное давление

ТФ – транскрипционный фактор

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айламазян Э.К., Степанова О. И., Сельков С. А. и др. Клетки иммунной системы матери и клетки трофобласта: «конструктивное сотрудничество» ради достижения совместной цели // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. – Т. 68. – № 11. – С. 12-21.
2. Алексеева Л.Л., Протопопова Н.В., Фаткуллина И.Б. Анализ показателей variability сердечного ритма у беременных с артериальной гипертензией // Артериальная гипертензия. – 2011. – Т. 17. – № 4. – С. 366-371.
3. База данных GENCODE V19. – электронный ресурс: <https://www.gencodegenes.org/human/> (дата обращения 11.05.2022г).
4. База данных GeneCards. – электронный ресурс: <https://www.genecards.org/> (дата обращения 09.06.2023г).
5. Баранов В.С. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности / В.С. Баранов, Э.К. Айламазян. - СПб.: Н-Л, 2009. - 66 с.
6. Баранов, В.С. Эволюция предиктивной медицины. Старые идеи, новые понятия / В.С. Баранов // Медицинская генетика. - 2017. - №5. - С. 4-9. 6.
7. Богданова И.М., Болтовская М.Н. Функциональная и фенотипическая характеристика классических (M1) и альтернативно активированных (M2) макрофагов и их роль в течении нормальной и патологической беременности (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2019. – Т. 25. – № 5. – С. 110-118.
8. Вашукова Е.С., Готов А.С., Баранов В.С. МикроРНК, ассоциированные с преэклампсией // Генетика. – 2020. – Т. 56. – № 1. – С. 5-20.
9. Вейр, Б. Анализ генетических данных, Дискретные генетические признаки/ Б.С. Вейр: пер. с англ. под общ. рук. Д.В. Зайкина, А.И. Пудовкина, А.Н. Татаренкова; Л.А. Животовский, А.И. Пудовкина. - М: Мир, 1995. - 400 с.

10. Ворожищева А.Ю. Генетические факторы развития преэклампсии в популяциях различного этнического происхождения. автореферат. - 2014.-24с.
11. Г.М.Савельева. Акушерство: Учебник/ Г.М.Савельева, В.И.Кулаков,. А44 А.Н.Стрижаков и др.; Под ред. Г.М.Савельевой. — М.: Медицина, 2000. — 816 с.
12. Клинические рекомендации: Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде.
13. Новиков Александр Викторович. Атипичный гемолитико-уремический синдром в общем и при беременности // Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева. – 2018. – № 3.
14. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации: статистические материалы/ Е.Г.Котова, О.С.Кобякова, В.И.Стародубов, Г.А.Александрова, Н.А.Голубев, Е.В.Огрызко, А.В.Поликарпов, Е.А.Шелепова-М.:ЦНИИОИЗ Минздрава России, 2021.- 171 с.
15. Пакин В.С., Вашукова Е.С., Капустин Р.В., Аржанова О.Н., Глотов А.С., Баранов В.С. Оценка уровня микроРНК в плаценте при тяжелом гестозе на фоне гестационного сахарного диабета // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – № 3.
16. Петров И.А., Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Петрова М.С., Логвинов С.В. Тканевые и молекулярные основы фолликулогенеза. Механизмы раннего фолликулярного роста // Проблемы репродукции. – 2017. – Т. 23. – № 5. – С.33-41.
17. Пузырев В.П., Кучер А.Н. Эволюционно-онтогенетические аспекты патогенетики хронических болезней человека // Генетика. – 2011. – Т. 47. – № 12. – С. 1573–1585.

18. Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Анализ генетической архитектуры преэклампсии в контексте эволюционной медицины // Медицинская генетика. – 2020. – Т. 19. – № 11. – С. 69-70.
19. Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Беременность как фактор адаптивной эволюции человека. Роль естественного отбора в возникновении // Генетика. – 2021. – Т. 57. – № 1. – С. 29-43.
20. Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Роль естественного отбора в формировании генетической компоненты преэклампсии // Молекулярная биология. – 2021. – Т. 55. – № 3. – С. 441-459.
21. Степанов В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонифицированная медицина // Acta Naturae. – 2010. – № 4. – С. 18-34.
22. Фаткуллина И.Б. Изменение показателей суточного мониторинга артериального давления в зависимости от уровня гомоцистеина при беременности, осложненной преэклампсией // БМЖ. – 2011. – № 2.
23. Щербаков В.И., Полонская Я.В., Каштанова Е.В., Ширинская А.В. Липиды при преэклампсии: патогенетические параллели с атеросклерозом // Артериальная гипертензия. – 2020. – Т. 26. – № 2. – С. 163-169.
24. Ярмолинская М.И., Шалина М.А., Нетребя Е.А. и др. Рецептивность эндометрия при аденомиозе и значение сигнальных путей в патогенезе заболевания (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2022. – Т. 28. – № 2. – С. 25-32.
25. Abildgaard U., Heimdal K. Pathogenesis of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count (HELLP): A review // European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology. – 2013. – Vol. 166. – № 2. – P. 117–123.
26. Abrahams V.M., Kim Y.M., Straszewski S.L., Romero R., Mor G. Macrophages and apoptotic cell clearance during pregnancy // American Journal of Reproductive Immunology. – 2004. – Vol. 51. – № 4. – 275-282.

27. Adil A., Kumar V., Jan A.T. et al. Single-cell transcriptomics: current methods and challenges in data acquisition and analysis // *Frontiers in Neuroscience*. – 2021. – Vol. 15. – P. 591122.
28. Aggarwal S., Dimri N., Tandon I. et al. Preeclampsia in North Indian women: the contribution of genetic polymorphisms // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. – 2011. – Vol. 37. – № 10. – P. 1335-1341.
29. Ahmad F., Debes P.V., Nousiainen I. et al. The strength and form of natural selection on transcript abundance in the wild // *Molecular Ecology*. – 2021. – Vol. 30. – № 12. – P. 2724-2737.
30. Ahmed S.I.Y., Ibrahim M.E., Khalil E.A.G. High altitude and pre-eclampsia: adaptation or protection // *Medical Hypotheses*. – 2017. – Vol. 104. – P. 128-132.
31. Akey J.M., Zhang G., Zhang K., et al. Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection // *Genome research*. – 2002. – Vol. 12. – № 12. – P. 1805-1814 .
32. Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E. et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling // *Nature*. – 2000. – Vol. 403. – № 6769. – P. 503-511.
33. Anton L., Brown A.G., Bartolomei M.S. et al. Differential methylation of genes associated with cell adhesion in preeclamptic placentas // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – № 6. – P. e100148.
34. Barbeira A. N. et al. Exploring the phenotypic consequences of tissue specific gene expression variation inferred from GWAS summary statistics // *Nature communications*. – 2018. – Vol. 9. – № 1. – P. 1825.
35. Barbujani G., Magagni A., Minch E. et al. An apportionment of human DNA diversity // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1997. – Vol. 94. – № 9. – P. 4516-4519.
36. Baumwell S., Karumanchi S.A. Pre-eclampsia: clinical manifestations and molecular mechanisms // *Nephron Clinical Practice*. – 2007. – Vol. 106. – № 2. – P. c72-c81.

37. Belo L., Caslake M., Gaffney D. et al. Changes in LDL size and HDL concentration in normal and preeclamptic pregnancies // *Atherosclerosis*. – 2002. – Vol. 162. – № 2. – P. 425-432.
38. Benjamini Y., Yekutieli D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency // *Annals of statistics*. – 2001. – Vol. 29. – № 4. – P. 1165-1188.
39. Bennett W.A., Lagoo-Deenadayan S., Stopple J.A. et al. Cytokine expression by first-trimester human chorionic villi // *American journal of reproductive immunology*. – 1998. – Vol. 40. – № 5. – P. 309-318.
40. Benton M.L., Abraham A., LaBella A.L. et al. The influence of evolutionary history on human health and disease // *Nature Reviews Genetics*. – 2021. – Vol. 22. – № 5. – P. 269-283.
41. Beretta L., Barturen G., Vigone B. et al. Genome-wide whole blood transcriptome profiling in a large European cohort of systemic sclerosis patients // *Annals of the rheumatic diseases*. – 2020. – Vol. 79. – № 9. – P. 1218-1226.
42. Bird C.P., Stranger B.E., Liu M. et al. Fast-evolving noncoding sequences in the human genome // *Genome biology*. – 2007. – Vol. 8. – № 8. – P. 1-12.
43. Blair J.D., Yuen R.K., Lim B.K. et al. Widespread DNA hypomethylation at gene enhancer regions in placentas associated with early-onset pre-eclampsia // *Molecular human reproduction*. – 2013. – Vol. 19. – № 10. – P. 697-708.
44. Bottega R., Marconi C., Faleschini M. et al. ACTN1-related thrombocytopenia: identification of novel families for phenotypic characterization // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2015. – Vol. 125. – № 5. – P. 869-872.
45. Bounds K.R., Chiasson V.L., Pan L.J. et al. MicroRNAs: new players in the pathobiology of preeclampsia // *Frontiers in cardiovascular medicine*. – 2017. – Vol. 4. – P. 60.
46. Boutroux H., David B., Guéguen P. et al. ACTN1-related macrothrombocytopenia: a novel entity in the progressing field of pediatric

- thrombocytopenia // *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. – 2017. – Vol. 39. – № 8. – P. e515-e518.
47. Brasaemle D.L., Dolios G., Shapiro L. et al. Proteomic analysis of proteins associated with lipid droplets of basal and lipolytically stimulated 3T3-L1 adipocytes // *Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – Vol. 279. – № 45. – P. 46835-46842.
48. Brosens I., Robertson W.B., Dixon H.G. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia // *Obstetrics and gynecology annual*. – 1972. – Vol. 1. – P. 177-191.
49. Brosens J.J., Pijnenborg R., Brosens I.A. The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies: a review of the literature // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2002. – Vol. 187. – № 5. – P. 1416-1423.
50. Brown E.A., Ruvolo M., Sabeti P.C. Many ways to die, one way to arrive: how selection acts through pregnancy // *Trends in Genetics*. – 2013. – Vol. 29. – № 10. – P. 585-592.
51. Buckberry S., Bianco-Miotto T., Bent S.J. et al. Placental transcriptome co-expression analysis reveals conserved regulatory programs across gestation // *BMC genomics*. – 2017. – Vol. 18. – P. 1-13.
52. Buckley R.J., Whitley G.S., Dumitriu I.E. et al. Macrophage polarisation affects their regulation of trophoblast behaviour // *Placenta*. – 2016. – Vol. 47. – P. 73-80.
53. Burrows T.D., King A., Loke Y.W. Trophoblast migration during human placental implantation // *Human reproduction update*. – 1996. – Vol. 2. – № 4. – P. 307-321.
54. Burton G.J., Redman C.W., Roberts J.M. et al. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications // *BMJ*. – 2019. – Vol. 366. – № 12381. – P. 1-15.

55. Burton G.J., Woods A.W., Jauniaux E. et al. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy // *Placenta*. – 2009. – Vol. 30. – № 6. – P. 473-482.
56. Çalışkan M., Pritchard J.K., Ober C. et al. The effect of freeze-thaw cycles on gene expression levels in lymphoblastoid cell lines // *PloS one*. – 2014. – Vol. 9. – № 9. – P. e107166.
57. Cao Y., Jia X., Huang Y. et al. Vitamin D stimulates miR-26b-5p to inhibit placental COX-2 expression in preeclampsia // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 11168.
58. Centlow M., Wingren C., Borrebaeck C. et al. Differential gene expression analysis of placentas with increased vascular resistance and pre-eclampsia using whole-genome microarrays // *Journal of pregnancy*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 472354.
59. Chaline J. Increased cranial capacity in hominid evolution and preeclampsia // *Journal of reproductive immunology*. – 2003. – Vol. 59. – № 2. – P. 137-152.
60. Chang T.C., Mendell J.T. microRNAs in vertebrate physiology and human disease // *The Annual Review of Genomics and Human Genetics*. – 2007. – Vol. 8. – P. 215-239.
61. Chen S.J., Zhang Y., Ye X.P. et al. Study of the molecular variation in pre-eclampsia placenta based on micro-Raman spectroscopy // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2014. – Vol. 290. – P. 943-946.
62. Chen W., Xu J., Wu Y. et al. The potential role and mechanism of circRNA/miRNA axis in cholesterol synthesis // *International Journal of Biological Sciences*. – 2023. – Vol. 19. – № 9. – P. 2879-2896.
63. Chen Z., Wang X. The Role and Application of Exosomes and Their Cargos in Reproductive Diseases: A Systematic Review // *Veterinary Sciences*. – 2022. – Vol. 9. – № 12. – P. 706.
64. Chen Z., Wang X. The Role and Application of Exosomes and Their Cargos in Reproductive Diseases: A Systematic Review // *Veterinary Sciences*. – 2022. – Vol. 9. – № 12. – P. 706.

65. Cole L.A., Khanlian S.A., Kohorn E.I. Evolution of the human brain, chorionic gonadotropin and hemochorial implantation of the placenta: insights into origins of pregnancy failures, preeclampsia and choriocarcinoma // *The Journal of Reproductive Medicine*. – 2008. – Vol. 53. – № 8. – P. 549-557.
66. Conrad K.P., Rabaglino M.B., Uiterweer E.D.P. Emerging role for dysregulated decidualization in the genesis of preeclampsia // *Placenta*. – 2017. – Vol. 60. – P. 119-129.
67. Conrad K.P., Rabaglino M.B., Uiterweer E.D.P. Emerging role for dysregulated decidualization in the genesis of preeclampsia // *Placenta*. – 2017. – Vol. 60. – P. 119-129.
68. Cornelius D.C. Preeclampsia: from inflammation to immunoregulation // *Clinical medicine insights: Blood disorders*. – 2018. – Vol. 11. – P. 1179545X17752325.
69. Cox B., Leavey K., Nosi U. et al. Placental transcriptome in development and pathology: expression, function, and methods of analysis // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2015. – Vol. 213. – № 4. – P. S138-S151.
70. Cummings M., Mappa G., Orsi N.M. Laser capture microdissection and isolation of high-quality RNA from frozen endometrial tissue // *Laser Capture Microdissection: Methods and Protocols*. – 2018. – Vol. 1723. – P. 155-166.
71. Cvitic S., Longtine M.S., Hackl H. et al. The human placental sexome differs between trophoblast epithelium and villous vessel endothelium // *PloS one*. – 2013. – Vol. 8. – № 10. – P. e79233.
72. Daca-Roszak P., Zietkiewicz E. Transcriptome variation in human populations and its potential application in forensics // *Journal of applied genetics*. – 2019. – Vol. 60. – № 3-4. – P. 319-328.
73. David L., Mallet C., Mazerbourg S. et al. Identification of BMP9 and BMP10 as functional activators of the orphan activin receptor-like kinase 1 (ALK1) in endothelial cells // *Blood*. – 2007. – Vol. 109. – № 5. – P. 1953-1961.

74. Delahaye F., Do C., Kong Y. et al. Genetic variants influence on the placenta regulatory landscape // *PLoS genetics*. – 2018. – Vol. 14. – № 11. – P. e1007785.
75. Dimitriadis E., Nie G., Hannan N.J. et al. Local regulation of implantation at the human fetal-maternal interface // *The International journal of developmental biology*. – 2009. – Vol. 54. – № 2-3. – P. 313-322.
76. Dixon A.L., Liang L., Moffatt M.F. et al. A genome-wide association study of global gene expression // *Nature genetics*. – 2007. – Vol. 39. – № 10. – P. 1202-1207.
77. Dunk C.E., Roggensack A.M., Cox B. et al. A distinct microvascular endothelial gene expression profile in severe IUGR placentas // *Placenta*. – 2012. – Vol. 33. – № 4. – P. 285-293.
78. Eide I.P., Isaksen C.V., Salvesen K.A. et al. Decidual expression and maternal serum levels of heme oxygenase 1 are increased in pre-eclampsia // *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. – 2008. – Vol. 87. – № 3. – P. 272-279.
79. Eisenberg J.F. The mammalian radiations: an analysis of trends in evolution, adaptation, and behavior // (No Title). – 1981.
80. Elliot M.G. Oxidative stress and the evolutionary origins of preeclampsia // *Journal of reproductive immunology*. – 2016. – Vol. 114. – P. 75-80.
81. ENCODE Project Consortium et al. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome // *Nature*. – 2012. – Vol. 489. – № 7414. – P. 57-74.
82. ENCODE Project Consortium et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project // *Nature*. – 2007. – Vol. 447. – P. 799-816.
83. Enquobahrie D.A., Meller M., Rice K. et al. Differential placental gene expression in preeclampsia // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2008. – Vol. 199. – № 5. – P. 566.e1-566.e11.
84. Excoffier L., Hamilton G. Comment on" Genetic structure of human populations" // *Science*. – 2003. – Vol. 300. – № 5627. – P. 1877-1877.

85. Fan H.P.Y., Di Liao C., Fu B.Y. et al. Interindividual and interethnic variation in genomewide gene expression: insights into the biological variation of gene expression and clinical implications // *Clinical chemistry*. – 2009. – Vol. 55. – № 4. – P. 774-785.
86. Fiorica P.N., Schubert R., Morris J.D. et al. Multi-ethnic transcriptome-wide association study of prostate cancer // *PLoS One*. – 2020. – Vol. 15. – № 9. – P. e0236209.
87. Fisher S.J. Why is placentation abnormal in preeclampsia? // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2015. – Vol. 213. – № 4. – P. S115-S122.
88. Flaxman S.M., Sherman P.W. Morning sickness: a mechanism for protecting mother and embryo // *The Quarterly review of biology*. – 2000. – Vol. 75. – № 2. – P. 113-148.
89. Founds S.A., Conley Y.P., Lyons-Weiler J.F. et al. Altered global gene expression in first trimester placentas of women destined to develop preeclampsia // *Placenta*. – 2009. – Vol. 30. – № 1. – P. 15-24.
90. Frazier S., McBride M.W., Mulvana H. et al. From animal models to patients: the role of placental microRNAs, miR-210, miR-126, and miR-148a/152 in preeclampsia // *Clinical Science*. – 2020. – Vol. 134. – № 8. – P. 1001-1025.
91. Fu X., Wu M., Chen Y. et al. The expression profile of plasmatic exosomal lncRNAs in early-onset preeclampsia by sequencing // *American Journal of Translational Research*. – 2022. – Vol. 14. – № 6. – P. 3806-3823.
92. Gadonski G., LaMarca B.B., Sullivan E. et al. Hypertension produced by reductions in uterine perfusion in the pregnant rat: role of interleukin 6 // *Hypertension*. – 2006. – Vol. 48. – № 4. – P. 711-716.
93. Gamliel M., Goldman-Wohl D., Isaacson B. et al. Trained memory of human uterine NK cells enhances their function in subsequent pregnancies // *Immunity*. – 2018. – Vol. 48. – № 5. – P. 951-962.
94. Garrido-Gomez T., Dominguez F., Quinonero A. et al. Defective decidualization during and after severe preeclampsia reveals a possible maternal

- contribution to the etiology // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2017. – Vol. 114. – № 40. – P. E8468-E8477.
95. Garrido-Gomez T., Dominguez F., Quinonero A. et al. Defective decidualization during and after severe preeclampsia reveals a possible maternal contribution to the etiology // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2017. – Vol. 114. – № 40. – P. E8468-E8477.
96. Ghaffari-Tabrizi-Wizsy N., Cvitic S., Tam-Amersdorfer C. et al. Different preference of degradome in invasion versus angiogenesis // *Cells Tissues Organs*. – 2015. – Vol. 200. – № 3-4. – P. 181-194.
97. Ghafourian M., Mahdavi R., Akbari Jonoush Z. et al. The implications of exosomes in pregnancy: Emerging as new diagnostic markers and therapeutics targets // *Cell Communication and Signaling*. – 2022. – Vol. 20. – № 1. – P. 1-19.
98. Ghosh G., Grewal J., Männistö T. et al. Racial/ethnic differences in pregnancy-related hypertensive disease in nulliparous women // *Ethnicity & disease*. – 2014. – Vol. 24. – № 3. – P. 283-289.
99. Ghulmiyyah L., Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia // *Seminars in perinatology*. – WB Saunders, 2012. – Vol. 36. – № 1. – P. 56-59.
100. Godley L.A., Cunningham J., Dolan M.E. et al. An integrated genomic approach to the assessment and treatment of acute myeloid leukemia // *Seminars in oncology*. – WB Saunders, 2011. – Vol. 38. – № 2. – P. 215-224.
101. Goffinet F., Torchin H., Ancel P.Y. et al. Épidémiologie de la prématurité: prévalence, évolution, devenir des enfants // *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*. – 2015. – Vol. 44. – № 8. – P. 723-731.
102. Gong J., Savitz D., Stein C. et al. Maternal ethnicity and pre-eclampsia in New York City, 1995–2003 // *Paediatric and perinatal epidemiology*. – 2012. – Vol. 26. – № 1. – P. 45-52.
103. Gonzalez T.L., Sun T., Koepfel A.F. et al. Sex differences in the late first trimester human placenta transcriptome // *Biology of Sex Differences*. – 2018. – Vol. 9. – № 4. – P. 1-23.

104. Göring H.H.H., Curran J.E., Johnson M.P. et al. Discovery of expression QTLs using large-scale transcriptional profiling in human lymphocytes // *Nature genetics*. – 2007. – Vol. 39. – № 10. – P. 1208-1216.
105. Gormley M., Ona K., Kapidzic M. et al. Preeclampsia: novel insights from global RNA profiling of trophoblast subpopulations // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2017. – Vol. 217. – № 2. – P. 200.e1-200.e17.
106. GTEx Consortium Lead analysts. Genetic effects on gene expression across human tissues // *Nature*. – 2017. – Vol. 550. – № 7675. – P. 204-213.
107. Gu M., Zhang F., Jiang X. et al. Influence of placental exosomes from early onset preeclampsia women umbilical cord plasma on human umbilical vein endothelial cells // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2022. – Vol. 9. – P. 1061340.
108. Gunel T., Hosseini M.K., Gumusoglu E. et al. Expression profiling of maternal plasma and placenta microRNAs in preeclamptic pregnancies by microarray technology // *Placenta*. – 2017. – Vol. 52. – P. 77-85.
109. Guo L., Tsai S.Q., Hardison N.E. et al. Differentially expressed microRNAs and affected biological pathways revealed by modulated modularity clustering (MMC) analysis of human preeclamptic and IUGR placentas // *Placenta*. – 2013. – Vol. 34. – № 7. – P. 599-605.
110. Gustafsson C., Mjosberg J., Matussek A. et al. Gene expression profiling of human decidual macrophages: evidence for immunosuppressive phenotype // *PloS one*. – 2008. – Vol. 3. – № 4. – P. e2078.
111. Haig D. Genetic conflicts in human pregnancy // *The Quarterly review of biology*. – 1993. – Vol. 68. – № 4. – P. 495-532.
112. Han W., Polosukhin V. et al. NF-B Inhibition after Cecal Ligation and Puncture Reduces Sepsis-Associated Lung Injury without Altering Bacterial Host Defense // *Mediators of inflammation*. – 2013. – P. e503213.
113. Herse F., Dechend R., Harsem N.K. et al. Dysregulation of the circulating and tissue-based renin-angiotensin system in preeclampsia // *Hypertension*. – 2007. – Vol. 49. – № 3. – P. 604-611.

114. Hoegh A.M., Borup R., Nielsen F.C. et al. Gene expression profiling of placentas affected by pre-eclampsia // *BioMed Research International*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 787545.
115. Holliday C.N., Miller E., Decker M.R. et al. Racial differences in pregnancy intention, reproductive coercion, and partner violence among family planning clients: a qualitative exploration // *Women's health issues*. – 2018. – Vol. 28. – № 3. – P. 205-211.
116. Hosseini M.K., Gunel T., Gumusoglu E. et al. MicroRNA expression profiling in placenta and maternal plasma in early pregnancy loss // *Molecular medicine reports*. – 2018. – Vol. 17. – № 4. – P. 4941-4952.
117. Hu X., Ao J., Li X. et al. Competing endogenous RNA expression profiling in pre-eclampsia identifies hsa circ 0036877 as a potential novel blood biomarker for early pre-eclampsia // *Clinical Epigenetics*. – 2018. – Vol. 10. – P. a48.
118. Huang S.J., Schatz F., Masch R. et al. Regulation of chemokine production in response to pro-inflammatory cytokines in first trimester decidual cells // *Journal of reproductive immunology*. – 2006. – Vol. 72. – № 1-2. – P. 60-73.
119. Huang X., Yuan T., Liang M. et al. Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer // *European urology*. – 2015. – Vol. 67. – № 1. – P. 33-41.
120. Hughes D et al. Evaluating intra- and inter-individual variation in the human placental transcriptome. *Genome Biology*. 2015. 16:54
121. Hughes D.A. et al. Evaluating intra-and inter-individual variation in the human placental transcriptome // *Genome biology*. – 2015. – Vol. 16. – № 1. – P. 1-18.
122. Hupuczi P., Rigó B., Sziller I. et al. Follow-up analysis of pregnancies complicated by HELLP syndrome // *Fetal diagnosis and therapy*. – 2006. – Vol. 21. – № 6. – P. 519-522.
123. Idaghdour Y., Czika W., Shianna K.V. et al. Geographical genomics of human leukocyte gene expression variation in southern Morocco // *Nature genetics*. – 2010. – Vol. 42. – № 1. – P. 62-67.

124. Ilekis J.V., Tsilou E., Fisher S. et al. Placental origins of adverse pregnancy outcomes: potential molecular targets: an Executive Workshop Summary of the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development // American journal of obstetrics and gynecology. – 2016. – Vol. 215. – № 1. – P. S1-S46.
125. Ioannidis J.P. A., Ntzani E.E., Trikalinos T.A. 'Racial'differences in genetic effects for complex diseases // Nature genetics. – 2004. – Vol. 36. – № 12. – P. 1312-1318.
126. Ishihara N., Matsuo H., Murakoshi H. et al. Increased apoptosis in the syncytiotrophoblast in human term placentas complicated by either preeclampsia or intrauterine growth retardation // American journal of obstetrics and gynecology. – 2002. – Vol. 186. – № 1. – P. 158-166.
127. Jablonski N.G., Chaplin G. Human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2010. – Vol. 107. – № supplement_2. – P. 8962-8968.
128. Jairajpuri D.S., Almawi W.Y. MicroRNA expression pattern in pre-eclampsia // Molecular medicine reports. – 2016. – Vol. 13. – № 3. – P. 2351-2358.
129. James J.L., Hurley D.G., Gamage T.K. et al. Isolation and characterisation of a novel trophoblast side-population from first trimester placentae // Reproduction. – 2015. – Vol. 150. – № 5. – P. 449-462.
130. Jarvenpaa J., Vuoristo J.T., Savolainen E.R. et al. Altered expression of angiogenesis-related placental genes in pre-eclampsia associated with intrauterine growth restriction // Gynecological Endocrinology. – 2007. – Vol. 23. – № 6. – P. 351-355.
131. Jebbink J.M., Boot R.G., Keijser R. et al. Increased glucocerebrosidase expression and activity in preeclamptic placenta // Placenta. – 2015. – Vol. 36. – № 2. – P. 160-169.

132. Jiang S.W., Zhou W., Wang J. et al. Gene expression patterns associated with human placental trophoblast differentiation // *Clinica Chimica Acta*. – 2019. – Vol. 495. – P. 637-645.
133. Junus K., Centlow M., Wikstrom A.K. et al. Gene expression profiling of placentae from women with early-and late-onset pre-eclampsia: down-regulation of the angiogenesis-related genes ACVRL1 and EGFL7 in early-onset disease // *Molecular human reproduction*. – 2012. – Vol. 18. – № 3. – P. 146-155.
134. Kajihara T., Jones M., Fusi L. et al. Differential expression of FOXO1 and FOXO3a confers resistance to oxidative cell death upon endometrial decidualization // *Molecular endocrinology*. – 2006. – Vol. 20. – № 10. – P. 2444-2455.
135. Kalambay J., Zaman R., Zaman M. Atypical Hemolytic uremic syndrome presenting as pre-eclampsia in a 24-year-old woman with chronic kidney disease: Pathogenesis and genetics // *Cureus*. – 2018. – Vol. 10. – № 9. – P. e3358.
136. Kang J.H., Song H., Yoon J.A. et al. Preeclampsia leads to dysregulation of various signaling pathways in placenta // *Journal of hypertension*. – 2011. – Vol. 29. – № 5. – P. 928-936.
137. Kang Y.J., Mbonye U.R., DeLong C.J. et al. Regulation of intracellular cyclooxygenase levels by gene transcription and protein degradation // *Progress in lipid research*. – 2007. – Vol. 46. – № 2. – P. 108-125.
138. Kasowski M., Grubert F., Heffelfinger C. et al. Variation in transcription factor binding among humans // *Science*. – 2010. – Vol. 328. – № 5975. – P. 232-235.
139. Kasture V., Sahay A., Joshi S. Cell death mechanisms and their roles in pregnancy related disorders // *Advances in protein chemistry and structural biology*. – 2021. – Vol. 126. – P. 195-225
140. Kawamichi Y., Cui C.H., Toyoda M. et al. Cells of extraembryonic mesodermal origin confer human dystrophin in the mdx model of Duchenne muscular dystrophy // *Journal of cellular physiology*. – 2010. – Vol. 223. – № 3. – P. 695-702.

141. Kelly D.E., Hansen M.E. B., Tishkoff S.A. Global variation in gene expression and the value of diverse sampling // *Current opinion in systems biology*. – 2017. – Vol. 1. – P. 102-108.
142. Khaitovich P., Weiss G., Lachmann M. et al. A neutral model of transcriptome evolution // *PLoS biology*. – 2004. – Vol. 2. – № 5. – P. e132.
143. Kim J., Zhao K., Jiang P. et al. Transcriptome landscape of the human placenta // *BMC genomics*. – 2012. – Vol. 13. – P. 1-21.
144. Kimura M. The neutral theory of molecular evolution: a review of recent evidence // *The Japanese Journal of Genetics*. – 1991. – Vol. 66. – № 4. – P. 367-386.
145. Kinshella M.L.W., Omar S., Scherbinsky K. et al. Maternal nutritional risk factors for pre-eclampsia incidence: findings from a narrative scoping review // *Reproductive health*. – 2022. – Vol. 19. – № 1. – P. 188.
146. Kirkby N.S., Lundberg M.H., Harrington L.S. et al. Cyclooxygenase-1, not cyclooxygenase-2, is responsible for physiological production of prostacyclin in the cardiovascular system // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2012. – Vol. 109. – № 43. – P. 17597-17602.
147. Klein R.J., Zeiss C., Chew E.Y. et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration // *Science*. – 2005. – Vol. 308. – № 5720. – P. 385-389.
148. Krieg S.A., Fan X., Hong Y. et al. Global alteration in gene expression profiles of deciduas from women with idiopathic recurrent pregnancy loss // *Molecular human reproduction*. – 2012. – Vol. 18. – № 9. – P. 442-450.
149. Kudo Y., Hara T., Katsuki T. et al. Mechanisms regulating the expression of indoleamine 2, 3-dioxygenase during decidualization of human endometrium // *Human Reproduction*. – 2004. – Vol. 19. – № 5. – P. 1222-1230.
150. Kuo C.Y., Shevchuk M., Opfermann J. et al. Trophoblast–endothelium signaling involves angiogenesis and apoptosis in a dynamic bioprinted placenta model // *Biotechnology and bioengineering*. – 2019. – Vol. 116. – № 1. – P. 181-192.

151. Lafontaine L., Chaudhry P., Lafleur M.J. et al. Transforming growth factor Beta regulates proliferation and invasion of rat placental cell lines // *Biology of reproduction*. – 2011. – Vol. 84. – № 3. – P. 553-559.
152. Lappalainen T., Sammeth M., Friedländer M.R. et al. Transcriptome and genome sequencing uncovers functional variation in humans // *Nature*. – 2013. – Vol. 501. – № 7468. – P. 506-511.
153. Leavey K., Benton S.J., Gynspan D. et al. Gene markers of normal villous maturation and their expression in placentas with maturational pathology // *Placenta*. – 2017. – Vol. 58. – P. 52-59.
154. Leavey K., Benton S.J., Gynspan D. et al. Unsupervised placental gene expression profiling identifies clinically relevant subclasses of human preeclampsia // *Hypertension*. – 2016. – Vol. 68. – № 1. – P. 137-147.
155. Lee G.S.R., Joe Y.S., Kim S.J. et al. Cytokine-related genes and oxidation-related genes detected in preeclamptic placentas // *Archives of gynecology and obstetrics*. – 2010. – Vol. 282. – P. 363-369.
156. Leeman L., Fontaine P. Hypertensive disorders of pregnancy // *American family physician*. – 2008. – Vol. 78. – № 1. – P. 93-100.
157. Lekva T., Lyle R., Roland M.C. et al. Gene expression in term placentas is regulated more by spinal or epidural anesthesia than by late-onset preeclampsia or gestational diabetes mellitus // *Scientific reports*. – 2016. – Vol. 6. – № 1. – P. 29715.
158. Leslie K., Whitley G.S., Herse F. et al. Increased apoptosis, altered oxygen signaling, and antioxidant defenses in first-trimester pregnancies with high-resistance uterine artery blood flow // *The American journal of pathology*. – 2015. – Vol. 185. – № 10. – P. 2731-2741.
159. Lewin T. M., Kim J. H., Granger D. A., Vance J. E., Coleman R. A. 2001. Acyl-CoA synthetase isoforms 1, 4, and 5 are present in different subcellular membranes in rat liver and can be inhibited independently. *J. Biol. Chem.* 276: 24674–24679.

160. Li D.D., Yang Z.Q., Guo C.H., Yue L., Duan C.C., Cao H., Guo B., Yue Z.P. Hmgn1 acts downstream of C/EBP β to regulate the decidualization of uterine stromal cells in mice // *Cell Cycle*.- 2015.-V.14(21) .-P. 3461-74.
161. Li H., Huang Y.H., Li M. et al. Trophoblasts-derived chemokine CCL24 promotes the proliferation, growth and apoptosis of decidual stromal cells in human early pregnancy // *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. – 2013. – Vol. 6. – № 6. – P. 1028-1037.
162. Li J., Song L., Zhou L., Wu J., Sheng C., Chen H., Liu Y., Gao S., Huang W. A microRNA signature in gestational diabetes mellitus associated with risk of macrosomia // *Cell Physiol Biochem*.-2015.-V. 37.-P. 243–252.
163. Li J.W., Lai K.P., Ching A.K., Chan T.F. Transcriptome sequencing of Chinese and Caucasian population identifies ethnic-associated differential transcript abundance of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNPK) // *Genomics*.- 2014 .- V. 103(1) .-P.56-64.
164. Li M., Piao L., Chen C.P., Wu X., Yeh C.C., Masch R. et al. Modulation of decidual macrophage polarization by macrophage colony-stimulating factor derived from first-trimester decidual cells: implication in preeclampsia // *Am. J. Pathol*.- 2016.-V. 186.-P. 1258–1266.
165. Li M., Piao L., Chen C.P., Wu X., Yeh C.C., Masch R., Chang C.C., Huang S.J. Modulation of Decidual Macrophage Polarization by Macrophage Colony-Stimulating Factor Derived from First-Trimester Decidual Cells: Implication in Preeclampsia // *Am. J. Pathol*.- 2016.- V. 186(5) .-P. 1258-66.
166. Liang M., Niu J., Zhang L., Deng H., Ma J., Zhou W., Duan D., Zhou Y., Xu H., Chen L. Gene expression profiling reveals different molecular patterns in G-protein coupled receptor signaling pathways between early- and late-onset preeclampsia // *Placenta*.- 2016.- V. 40.- P. 52–59.
167. Lim J.H., Han Y.J., Kim H.J., Kwak D.W., Park S.Y., Chun S.H., Ryu H.M. Genome-wide gene expression analysis in the placenta from fetus with trisomy 21// *BMC Genomics*.- 2017.-V. 18.-P. 720.

168. Lim K.S., Chang S.S., Choi B.H. et al. Genome-Wide Analysis of Allele-Specific Expression Patterns in Seventeen Tissues of Korean Cattle // *Animals (Basel.)* .- 2019.-V. 9(10) .-P. 727.
169. Liu Y., Fan X., Wang R., Lu X., Dang Y.L., Wang H., Lin H.Y., Zhu C., Ge H., Cross J.C. et al. Single-cell RNA-seq reveals the diversity of trophoblast subtypes and patterns of differentiation in the human placenta // *Cell Res.*- 2018.-V. 28.-P. 819–832.
170. Lo J.O., Mission J.F., Caughey A.B. Hypertensive disease of pregnancy and maternal mortality // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*-2013 .-V. 25(2) .-P. 124-32.
171. Lockwood C.J., Huang S.J., Krikun G., et al. Decidual hemostasis, inflammation, and angiogenesis in pre-eclampsia // *Semin. Thromb. Hemost.*-2011.-V. 37(2) .-P. 158–164.
172. Lockwood C.J., Paidas M., Krikun G. et al. Inflammatory cytokine and thrombin regulation of interleukin-8 and intercellular adhesion molecule-1 expression in first trimester human decidua // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*-2005.-V. 90(8).- P. 4710–4715.
173. Lokeswara A.W., Hiksas R., Irwinda R., Wibowo N. Preeclampsia: From Cellular Wellness to Inappropriate Cell Death, and the Roles of Nutrition // *Front. Cell Dev. Biol.*-2021.- V.9.- P.726513.
174. Loset M., Mundal S.B., Johnson M.P., Fenstad M.H., Freed K.A., Lian I.A., Eide I.P., Bjorge L., Blangero J., Moses E.K. et al. A transcriptional profile of the decidua in preeclampsia // *Am. J. Obstet. Gynecol.*-2011.-V. 84.-P. e1–e27.
175. Lykoudi A., Kolialexi A., Lambrou G.I., Braoudaki M., Siristatidis C., Papaioanou G.K., Tzetis M., Mavrou A., Papantoniou N. Dysregulated placental microRNAs in early and late onset preeclampsia // *Placenta.*-2018.-V. 61.-P. 24–32.
176. Macosko E.Z., Basu A., Satija R. et al. Highly parallel genome-wide expression profiling of individual cells using nanoliter droplets // *Cell.* – 2015. – Vol. 161. – № 5. – P. 1202-1214.

177. Maeda K., Showmaker K.C., Johnson A.C., Garrett M.R., Sasser J.M. Spontaneous superimposed preeclampsia: chronology and expression unveiled by temporal transcriptomic analysis // *Physiol. Genomics*.-2019.-V. 51(8).-P. 342-355.
178. Martin A.R. et al. Transcriptome Sequencing from Diverse Human Populations Reveals Differentiated Regulatory Architecture // *PLoS Genet*.-2014.-V. 10.- P. e1004549.
179. Martin A.R., Costa H.A., Lappalainen T., Henn B.M., Kidd J.M., Yee M.C., Grubert F., Cann H.M., Snyder M., Montgomery S.B., Bustamante C.D. Transcriptome sequencing from diverse human populations reveals differentiated regulatory architecture // *PLoS Genet*.-2014.-V. 10(8).- P. e1004549.
180. Martin E., Ray P.D., Smeester L., Grace M.R., Boggess K., Fry R.C. Epigenetics and preeclampsia: defining functional epimutations in the preeclamptic placenta related to the TGF-beta pathway // *PLoS One*.-2015.-V.10.- P. e0141294.
181. Mayor-Lynn K., Toloubeydokhti T., Cruz A.C., Chegini N. Expression profile of microRNAs and mRNAs in human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia and preterm labor // *Reprod. Sci*.-2011.-V. 18.- P. 46–56.
182. Mayumi Mori, Agnes Bogdan . The decidua—the maternal bed embracing the embryo—maintains the pregnancy // *Semin Immunopathol*.-2016.-V. 38(6).-P. 635–649.
183. McDavid A., Finak G., Chattopadhyay P.K., Dominguez M., Lamoreaux L., Ma SS, Roederer M, Gottardo R. Data exploration, quality control and testing in single-cell qPCR-based gene expression experiments // *Bioinformatics*.-2013.-V. 29(4).-P. 461-7.
184. Medina-Bastidas D., Guzmán-Huerta M., Borboa-Olivares H., et al. Placental Microarray Profiling Reveals Common mRNA and lncRNA Expression Patterns in Preeclampsia and Intrauterine Growth Restriction // *Int. J. Mol. Sci*.-2020.-V. 21(10).-P. 3597.

185. Melé M., Ferreira P.G., Reverter F., DeLuca D.S., Monlong J., Sammeth M., Young T.R., Goldmann J.M., Pervouchine D.D., Sullivan T.J., Johnson R., Segrè A.V., Djebali S., Niarchou A. GTEx Consortium. Human genomics. The human transcriptome across tissues and individuals // *Science*.-2015.-V. 348(6235).-P. 660-5.
186. Meng T., Chen H., Sun M., Wang H., Zhao G., Wang X. Identification of differential gene expression profiles in placentas from preeclamptic pregnancies versus normal pregnancies by DNA microarrays // *OMICS*.-2012.-V. 16.-P. 301–311.
187. Messini S., Delucca A. HELLP syndrome // *Minerva Ginecol*.-1991.-V. 43.-P. 465–468.
188. Metsalu T., Viltrop T., Tiirats A., Rajashekar B., Reimann E., Koks S., Rull K., Milani L., Acharya G., Basnet P. et al. Using RNA sequencing for identifying gene imprinting and random monoallelic expression in human placenta // *Epigenetics*.-2014.- V.9.-P. 1397–1409.
189. Michalczyk M., Celewicz A., Celewicz M., Woźniakowska-Gondek P., Rzepka R. The Role of Inflammation in the Pathogenesis of Preeclampsia // *Mediators Inflamm*.-2020.-P. 3864941.
190. Mikheev A.M., Nabekura T., Kaddoumi A., Bammler T.K., Govindarajan R., Hebert M.F., Unadkat J.D. Profiling gene expression in human placentae of different gestational ages: an OPRU Network and UW SCOR Study // *Reprod Sci*.-2008.-V. 15.-P. 866–877.
191. Mincheva-Nilsson L., Baranov V. The role of placental exosomes in reproduction // *Am. J. Reprod. Immunol*.-2010.-V. 63.-P.520–533.
192. Mirabito Colafella K.M., Neuman R.I., Visser W., Danser A., Versmissen J. Aspirin for the prevention and treatment of pre-eclampsia: A matter of COX-1 and/or COX-2 inhibition? // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol*.-2020.-V. 127(2).-P. 132-141.
193. Mitchell K.A., Zingone A., Toulabi L., Boeckelman J., Ryan B.M. Comparative Transcriptome Profiling Reveals Coding and Noncoding RNA

Differences in NSCLC from African Americans and European Americans // Clin Cancer Res.-2017.-V. 23(23).-P. 7412-7425.

194. Mohlin F.C., Mercier E., Fremeaux-Bacchi V., Liszewski M.K., Atkinson J.P., Gris J.C., Blom A.M. Analysis of genes coding for CD46, CD55, and C4b-binding protein in patients with idiopathic, recurrent, spontaneous pregnancy loss // Eur. J. Immunol.-2013.-V. 43(6).-P. 1617-29.

195. Morales-Prieto D.M., Ospina-Prieto S., Schmidt A., Chaiwangyen W., Markert U.R. Elsevier Trophoblast Research Award Lecture: Origin, evolution and future of placenta miRNAs // Placenta.-2014.-V. 35.-P. S39–S45.

196. Nakimuli A., Chazara O., Byamugisha J. et al. Pregnancy, parturition and preeclampsia in women of African ancestry // Am. J. Obstet. Gynecol.-2014.-V. 210(6).-P. 510-520.

197. Nassar F.J., Nasr R., Talhouk R. MicroRNAs as biomarkers for early breast cancer diagnosis, prognosis and therapy prediction // Pharmacol Ther.-2017.-V. 172.-P. 34-49.

198. Nassar F.J., Talhouk R., Zgheib N.K., Tfayli A., El Sabban M., El Saghir N.S., Boulos F., Jabbour M.N., Chalala C., Boustany R.M., Kadara H., Zhang Z., Zheng Y., Joyce B., Hou L., Bazarbachi A., Calin G., Nasr R. microRNA Expression in Ethnic Specific Early Stage Breast Cancer: an Integration and Comparative Analysis // Sci Rep.-2017.-V. 7(1).-P. 16829.

199. Nédélec Y., Sanz J., Baharian G., Szpiech Z.A., Pacis A., Dumaine A., Grenier J.C., Freiman A., Sams A.J., Hebert S., Pagé Sabourin A., Luca F., Blekhman R., Hernandez R.D., Pique-Regi R., Tung J., Yotova V., Barreiro L.B. Genetic Ancestry and Natural Selection Drive Population Differences in Immune Responses to Pathogens // Cell.-2016.-V. 167(3).-P. 657-669.

200. Nie G.Y., Li Y., Minoura H., Findlay J.K., Salamonsen L.A. Specific and transient up-regulation of proprotein convertase 6 at the site of embryo implantation and identification of a unique transcript in mouse uterus during early pregnancy // Biol. Reprod.-2003.-V. 68(2).-P. 439–447.

201. Nishizawa H., Ota S., Suzuki M., Kato T., Sekiya T., Kurahashi H., Udagawa Y. Comparative gene expression profiling of placentas from patients with severe pre-eclampsia and unexplained fetal growth restriction // *Reprod. Biol. Endocrinol.*-2011.-V. 9.- P. 107.
202. Nishizawa H., Pryor-Koishi K., Kato T., Kowa H., Kurahashi H., Udagawa Y. Microarray analysis of differentially expressed fetal genes in placental tissue derived from early and late onset severe pre-eclampsia // *Placenta.*-2007.-V. 28.-P. 487–497.
203. Ohmaru-Nakanishi T., Asanoma K., Fujikawa M., Fujita Y., Yagi H., Onoyama I., Hidaka N., Sonoda K., Kato K. Fibrosis in preeclamptic placentas is associated with stromal fibroblasts activated by the transforming growth factor-beta1 signaling pathway // *Am. J. Pathol.*-2018.-V. 188.-P. 683–695.
204. Ostling H., Kruse R., Helenius G., Lodefalk M. Placental expression of microRNAs in infants born small for gestational age // *Placenta.*-2019.-V.81.-P. 46–53.
205. Palmer J., Palmer L. *Evolutionary Psychology: The Ultimate Origins of Human Behavior* // New Jersey.-2001.-304 p.
206. Pan-Castillo B., Gazze S.A., Thomas S. et al. Morphophysical dynamics of human endometrial cells during decidualization // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* – 2018. – Vol. 14. – № 7. – P. 2235-2245.
207. Pavlicev M., Wagner G.P., Chavan A.R., Owens K., Maziarz J., Dunn-Fletcher C., Kallapur S.G., Muglia L., Jones H. Single-cell transcriptomics of the human placenta: inferring the cell communication network of the maternal-fetal interface // *Genome Res.*-2017.-V. 27.-P. 349–361.
208. Pei Z., Oey N. A., Zuidervart M. M., Jia Z., Li Y., Steinberg S. J., Smith K. D., Watkins P. A. 2003. The acyl-CoA synthetase “bubblegum” (lipidosin): further characterization and role in neuronal fatty acid beta-oxidation // *J. Biol. Chem.*-V. 278.-P. 47070–47078.
209. Peng S., Deyssenroth M.A., Di Narzo A.F., Cheng H., Zhang Z., Lambertini L., Ruusalepp A., Kovacic J.C., Bjorkegren J., Marsit C.J. et al. Genetic regulation

- of the placental transcriptome underlies birth weight and risk of childhood obesity // *PLoS Genet.*-2018.-V. 14.-P. e1007799.
210. Perry A., Stephanou A., Rayman M.P. Dietary factors that affect the risk of pre-eclampsia // *BMJ Nutr Prev Health.*-2022.-V. 5(1).-P. 118-133.
211. Perucho L., Artero-Castro A., Guerrero S., Ramón y Cajal S., LLeonart M.E., Wang Z-Q. RPLP1, a crucial ribosomal protein for embryonic development of the nervous system // *PLoS One.*-2014.-V. 9(6).-P. e99956.
212. Pijnenborg R., Vercruysse L., Hanssens M., Brosens I. Endovascular trophoblast and preeclampsia: A reassessment // *Pregnancy Hypertens.*-2011.-V. 1(1).-P. 66–71.
213. Powell R.M., Lissauer D., Tamblyn J., Beggs A., Cox P., Moss P., Kilby M.D. Decidual T cells exhibit a highly differentiated phenotype and demonstrate potential fetal specificity and a strong transcriptional response to IFN // *J. Immunol.*-2017.-V. 199.-P. 3406–3417.
214. Profet M. Pregnancy sickness as adaptation: a deterrent to maternal ingestion of teratogens // *The Adapted Mind: Evolutionary Psychology and the Generation of Culture* / Eds Barkow J.H., Cosmides L., Tooby J. N.Y.: Oxford Univ. Press.-1992.-P. 327–365.
215. Przybyl L., Haase N., Golic M., Rugor J., Solano M.E., Arck P.C. et al. CD74-downregulation of placental macrophage-trophoblastic interactions in preeclampsia // *Circ. Res.*-2016.-V. 119.-P. 55–68.
216. Qu H., Yu Q., Jia B., Zhou W., Zhang Y., Mu L. HIF3 α affects preeclampsia development by regulating EVT growth via activation of the Flt1/JAK/STAT signaling pathway in hypoxia // *Mol. Med. Rep.*-2021.-V. 23.-P. 68.
217. Quach H., Rotival M., Pothlichet J., Loh Y.E., Dannemann M., Zidane N., Laval G., Patin E., Harmant C., Lopez M., Deschamps M., Naffakh N., Duffy D., Coen A., Leroux-Roels G., Clément F., Boland A., Deleuze J.F., Kelso J., Albert M.L., Quintana-Murci L. Genetic Adaptation and Neandertal Admixture Shaped the Immune System of Human Populations // *Cell.*-2016.-V. 167(3).-P. 643-656.

218. Raguema N., Moustadraf S., Bertagnolli M. Immune and Apoptosis Mechanisms Regulating Placental Development and Vascularization in Preeclampsia // *Front. Physiol.*-2020.-V. 11.-P. 98.
219. Raj T., Rothamel K., Mostafavi S., Ye C., Lee M.N., Replogle J.M., Feng T., Lee M., Asinowski N., Frohlich I., Imboywa S., Von Korff A., Okada Y., Patsopoulos N.A., Davis S., McCabe C., Paik H.I., Srivastava G.P., Raychaudhuri S., Hafler A., Koller D., Regev A., Hacohen N., Mathis D., Benoist C., Stranger B.E., De Jager P.L. Polarization of the effects of autoimmune and neurodegenerative risk alleles in leukocytes // *Science*.-2014.-V. 344(6183).-P. 519-23.
220. Reijnders D., Olson K.N., Liu C.C., Beckers K.F., Ghosh S., Redman L.M., Sones J.L. Dyslipidemia and the role of adipose tissue in early pregnancy in the BPH/5 mouse model for preeclampsia // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*-2019.-V. 317(1).-P. R49-R58.
221. Ribeiro V. R., Romao-Veiga M., Romagnoli G. G., et al. Association between cytokine profile and transcription factors produced by T-cell subsets in early- and late-onset pre-eclampsia // *Immunology*.-2017.-V. 152(1).-P. 163–173.
222. Roberts J.M., Bell M.J. If we know so much about preeclampsia, why haven't we cured the disease? // *J. Reprod. Immunol.*-2013.-V. 99(1-2).-P. 1-9.
223. Robillard P.Y., Dekker G.A., Hulsey T.C. Evolutionary adaptations to pre-eclampsia/eclampsia in humans: low fecundability rate, loss of oestrus, prohibitions of incest and systematic polyandry // *Am. J. Reprod. Immunol.*-2002.-V. 47(2).-P. 104-111.
224. Robinson D.P., Klein S.L. Pregnancy and pregnancy-associated hormones alter immune responses and disease pathogenesis // *Horm. Behav.*-2012.-V. 62(3).-P. 263-71.
225. Robson S., Simpson H., Ball E., Lyall F., Bulmer J. () Punch biopsy of the human placental bed // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.- 2002.-V. 187(5) .-P. 1349-1355.

226. Roost M.S., van Iperen L., Ariyurek Y., Buermans H.P., Arindrarto W., Devalla H.D., Passier R., Mummery C.L., Carlotti F., de Koning E.J. et al. KeyGenes, a tool to probe tissue differentiation using a human fetal transcriptional atlas // *Stem Cell Reports*.-2015.-V. 4.-P. 1112–1124.
227. Rosenberg N.A., Pritchard J.K., Weber J.L., Cann H.M., Kidd K.K., Zhivotovsky L.A., Feldman M.W. Genetic structure of human populations // *Science*.- 2002.-V. 298.-P. 2381–2385.
228. Saben J., Zhong Y., McKelvey S., Dajani N.K., Andres A., Badger T.M., Gomez-Acevedo H., Shankar K. A comprehensive analysis of the human placenta transcriptome // *Placenta*.-2014.-V. b:35.-P. 125–131.
229. Sakatsume M., Igarashi K., Winestock K.D., Garotta G., Larner A.C., Finbloom D.S. The Jak kinases differentially associate with the alpha and beta (accessory factor) chains of the interferon gamma receptor to form a functional receptor unit capable of activating STAT transcription factors // *J. Biol. Chem*.-1995.- V. 270(29).-P. 17528-34.
230. Saleh L., Otti G.R., Fiala C., Pollheimer J., Knöfler M. Evaluation of human first trimester decidual and telomerase-transformed endometrial stromal cells as model systems of in vitro decidualization // *Reprod Biol Endocrinol*.-2011.-V. 9.-P. 155.
231. Schmedtje J.F. Jr, Ji Y.S., Liu W.L., DuBois R.N., Runge M.S. Hypoxia induces cyclooxygenase-2 via the NF-kappaB p65 transcription factor in human vascular endothelial cells // *J. Biol. Chem*.-1997.-V. 272.-P. 601-608.
232. Sharp A.N., Heazell A.E., Crocker I.P., Mor G. Placental apoptosis in health and disease // *Am. J. Reprod. Immunol*.-2010.-V. 64(3).-P. 159-69.
233. Sheikh A.M., Small H.Y., Currie G., Delles C. Systematic Review of Micro-RNA Expression in Pre-Eclampsia Identifies a Number of Common Pathways Associated with the Disease // *PLoS One*.-2016.-V. 11(8).-P. e0160808.
234. Sherman P.W., Flaxman S.M. Nausea and vomiting of pregnancy in an evolutionary perspective // *Am. J. Obstet. Gynecol*.-2002.-V.186.-№ 5.-P. 190–197.

235. Sibai B.M. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count // *Obstet. Gynecol.*-2004.-V. 103.-P. 981–991.
236. Sibai B.M. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): Much ado about nothing? // *Am. J. Obstet. Gynecol.*-1990.-V. 162.-P. 311–316.
237. Sibiak R., Jankowski M., Gutaj P., Mozdziak P., Kempisty B., Wender-Ożegowska E. Placental Lactogen as a Marker of Maternal Obesity, Diabetes, and Fetal Growth Abnormalities: Current Knowledge and Clinical Perspectives // *J. Clin. Med.*-2020.-V. 9(4).-P. 1142.
238. Sitras V., Fenton C., Paulssen R., Vartun A., Acharya G. Differences in gene expression between first and third trimester human placenta: a microarray study // *PLoS One*.-2012.-V. 7.-P. e33294.
239. Sitras V., Paulssen R.H., Gronaas H., Leirvik J., Hanssen T.A., Vartun A., Acharya G. Differential placental gene expression in severe preeclampsia // *Placenta*.-2009.-V. b:30.-P. 424–433.
240. Smith S.D., Dunk C.E., Aplin J.D., Harris L.K., Jones R.L. Evidence for immune cell involvement in decidual spiral arteriole remodeling in early human pregnancy // *Am. J. Pathol.*-2009.-V. 174.-P. 1959–1971.
241. Sober S., Reiman M., Kikas T., Rull K., Inno R., Vaas P., Teesalu P., Marti J., Mattila P., Laan M. Extensive shift in placental transcriptome profile in preeclampsia and placental origin of adverse pregnancy outcomes // *Sci. Rep.*-2015.-V. 5.-P. 13336.
242. Somel M., Khaitovich P., Bahn S., Pääbo S., Lachmann M. Gene expression becomes heterogeneous with age // *Curr. Biol.*-2006.-V. 16(10).-P. R359-60.
243. Soncin F., Khater M., To C., Pizzo D., Farah O., Wakeland A., Arul Nambi Rajan K., Nelson K.K., Chang C.W., Moretto-Zita M. et al. Comparative analysis of mouse and human placentae across gestation reveals species-specific regulators of placental development // *Development*.-2018.-V. 145.-P. dev156273.

244. Song H., Li H., Huang M., Xu D., Gu C., Wang Z, Dong F, Wang F. Induced pluripotent stem cells from goat fibroblasts // *Mol. Reprod. Dev.*-2013.-V. 80(12).-P. 1009-17.
245. Song Y., Liu J., Huang S., Zhang L. Analysis of differentially expressed genes in placental tissues of preeclampsia patients using microarray combined with the Connectivity Map database // *Placenta*.-2013.-V. 34.-P. 1190–1195.
246. Sood R., Zehnder J.L., Druzin M.L., Brown P.O. Gene expression patterns in human placenta // *Proc Natl Acad Sci U S A*.-2006.-V. 103.-P. 5478–5483.
247. Spielman R.S, et al. Common genetic variants account for differences in gene expression among ethnic groups // *Nat. Genet.*- 2007.- Vol.39.-P. 226–231.
248. Steindal A.H., Tam T.T., Lu X.Y. et al. 5-Methyltetrahydrofolate is photosensitive in the presence of riboflavin // *Photochem. Photobiol. Sci.*-2008.-V. 7.- № 7.-P. 814–818.
249. Stewart C.L., Kaspar P., Brunet L.J. et al. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor // *Nature*.-1992.-V. 359(6390).-P. 76–79.
250. Storey J.D., Madeoy J., Strout J.L., Wurfel M., Ronald J., Akey J.M. Gene-expression variation within and among human populations // *Am. J. Hum. Genet.*-2007.- V. 80(3).- P. 502–509.
251. Stranger B.E., Forrest M.S., Dunning M., Ingle C.E., Beazley C., Thorne N., Redon R., Bird C.P., de Grassi A., Lee C., Tyler-Smith C., Carter N., Scherer S.W., Tavaré S., Deloukas P., Hurles M.E., Dermitzakis E.T. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes // *Science*.-2007.-V. 315(5813).- P. 848-53.
252. Stranger B.E., Montgomery S.B., Dimas A.S., Parts L., Stegle O., Ingle C.E., Sekowska M., Smith G.D., Evans D., Gutierrez-Arcelus M., Price A., Raj T., Nisbett J., Nica A.C., Beazley C., Durbin R., Deloukas P., Dermitzakis E.T. Patterns of cis regulatory variation in diverse human populations // *PLoS Genet.*-2012.-V. 8(4).-P. e1002639.

253. Stranger et al. Population genomics of human gene expression // Nat. Genet.- 2007.- Vol.39(10).- P.1217–1224.
254. Su Y., Huang J., Wang S., Unger J.M., Arias-Fuenzalida J., Shi Y., Li J., Gao Y., Shi W., Wang X., Peng R., Xu F., An X., Xue C., Xia W., Hong R., Zhong Y., Lin Y., Huang H., Zhang A., Zhang L., Cai L., Zhang J., Yuan Z. The Effects of Ganglioside-Monosialic Acid in Taxane-Induced Peripheral Neurotoxicity in Patients with Breast Cancer: A Randomized Trial // J. Natl. Cancer Inst.-2020.-V. 112(1).-P. 55-62.
255. Sugimoto T., Haneda M., Sawano H. et al. Endothelin-1 induces cyclooxygenase-2 expression via nuclear factor of activated T-cell transcription factor in glomerular mesangial cells // J. Am. Soc. Nephrol.-2001.-V. 12.-P. 1359-1368.
256. Sun Y.V., Hu Y.J. Integrative Analysis of Multi-omics Data for Discovery and Functional Studies of Complex Human Diseases // Adv. Genet.-2016.-93.-V. 147-P. 90.
257. Suryawanshi H., Morozov P., Straus A., Sahasrabudhe N., Max K., Garzia A., Kustagi M., Tuschl T., Williams Z. A single-cell survey of the human first-trimester placenta and decidua // Sci. Adv.-2018.-V. 4.-P. eaau4788.
258. Suzuki Y., Ohga N., Morishita Y., Hida K., Miyazono K., Watabe T. BMP-9 induces proliferation of multiple types of endothelial cells in vitro and in vivo // J. Cell Sci.- 2010.-V. 123.-P. 1684-1692.
259. Szczuko M., Kikut J., Komorniak N., Bilicki J., Celewicz Z., Ziętek M. The Role of Arachidonic and Linoleic Acid Derivatives in Pathological Pregnancies and the Human Reproduction Process // Int. J. Mol. Sci.-2020.-V. 21.-P. 9628.
260. Tang et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell // Nature. -2009. – Vol.6.- P. 377–382.
261. Tang J., Wang D., Lu J., Zhou X. MiR-125b participates in the occurrence of preeclampsia by regulating the migration and invasion of extravillous trophoblastic cells through STAT3 signaling pathway // J. Recept. Signal. Transduct. Res.- 2021.-V. 41.-P. 202–208.

262. Tannetta D., Sargent I. Placental disease and the maternal syndrome of preeclampsia: missing links? // *Curr. Hypertens. Rep.*-2013.-V. 15.-№ 6.-P. 590–599.
263. Thames A.D., Irwin M.R., Breen E.C., Cole S.W. Experienced discrimination and racial differences in leukocyte gene expression // *Psychoneuroendocrinology*.-2019.-V. 106.- P. 277-283.
264. Than N.G., Romero R., Tarca A.L., Kekesi K.A., Xu Y., Xu Z., Juhasz K., Bhatti G., Leavitt R.J., Gelencser Z. et al. Integrated systems biology approach identifies novel maternal and placental pathways of preeclampsia // *Front. Immunol.*-2018.-V. 9.-P. 1661.
265. Tong J., Zhao W., Lv H., Li W.P., Chen Z.J., Zhang C. Transcriptomic profiling in human decidua of severe preeclampsia detected by RNA sequencing // *J. Cell Biochem.*-2018.-V. 119.- P. 607–615.
266. Tontonoz P., Mangelsdorf D. J. Liver X receptor signaling pathways in cardiovascular disease // *Mol. Endocrinol.*-2003.-V. 17.- P. 985–993.
267. Tossetta G., Fantone S., Giannubilo S.R. et al. Pre-eclampsia onset and SPARC: a possible involvement in placenta development // *J. Cell. Physiol.*-2019.-V. 234.- P. 6091–6098.
268. Trifonova E.A., Gabidulina T.V., Ershov N.I., Serebrova V.N., Vorozhishcheva A.Y., Stepanov V.A. Analysis of the placental tissue transcriptome of normal and preeclampsia complicated pregnancies // *Acta Naturae*.-2014.-V. 6(2).-P. 71-83.
269. Tsai S., Hardison N.E., James A.H., Motsinger-Reif A.A., Bischoff S.R., Thames B.H., Piedrahita J.A. Transcriptional profiling of human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia reveals dysregulation of sialic acid acetyltransferase and immune signalling pathways // *Placenta*.-2011.-V. 32.- P. 175–182.
270. Tsang J., Vong J., Ji L., Poon L., Jiang P., Lui K.O., Ni Y.B., To K.F., Cheng Y., Chiu R. et al. Integrative single-cell and cell-free plasma RNA

transcriptomics elucidates placental cellular dynamics // *Proc Natl Acad Sci U S A*.-2017.-V. 114.-P. E7786–E7795.

271. Tsui N.B., Chim S.S., Chiu R.W., Lau T.K., Ng E.K., Leung T.N., Tong Y.K., Chan K.C., Lo Y.M. Systematic micro-array based identification of placental mRNA in maternal plasma: towards non-invasive prenatal gene expression profiling // *J. Med. Genet.*-2004.-V. 41.-P. 461–467.

272. Turan N., Ghalwash M.F., Katari S., Coutifaris C., Obradovic Z., Sapienza C. DNA methylation differences at growth related genes correlate with birth weight: a molecular signature linked to developmental origins of adult disease? // *BMC Med. Genomics*.-2012.-V. 5.-P. 10.

273. Turco M.Y., Gardner L., Kay R.G., Hamilton R.S., Prater M., Hollinshead M.S., McWhinnie A., Esposito L., Fernando R., Skelton H. et al. Trophoblast organoids as a model for maternal-fetal interactions during human placentation // *Nature*.-2018.-V. 564.-P. 263–267.

274. Valenzuela-Melgarejo F.J., Lagunas C., Carmona-Pastén F., Jara-Medina K., Delgado G. Supraphysiological Role of Melatonin Over Vascular Dysfunction of Pregnancy, a New Therapeutic Agent? // *Front. Physiol.*-2021.-V. 12.-P. 767684.

275. Van Lieshout L.C.E.W., Koek G.H., Spaanderman M.A., van Runnard Heimel P.J. Placenta derived factors involved in the pathogenesis of the liver in the syndrome of haemolysis, elevated liver enzymes and low platelets (HELLP): A review // *Pregnancy Hypertens.*-2019.-V. 18.-P. 42–48.

276. Vento-Tormo R., Efremova M., Botting R.A., Turco M.Y., Vento-Tormo M., Meyer K.B., Park J.E., Stephenson E., Polanski K., Goncalves A. et al. Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans // *Nature*.-2018.-V. 563.-P. 347–353.

277. Vinketova K., Mourdjeva M., Oreshkova T. et al. Human decidual stromal cells as a component of the implantation niche and a modulator of maternal immunity // *Journal of pregnancy*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 8689436.

278. Vinketova K., Mourdjeva M., Oreshkova T. Human Decidual Stromal Cells as a Component of the Implantation Niche and a Modulator of Maternal Immunity // *J. Pregnancy*.-2016.-P. 8689436.
279. Voutetakis A., Pervanidou P., Kanaka-Gantenbein C. Aspirin for the Prevention of Preeclampsia and Potential Consequences for Fetal Brain Development // *JAMA Pediatr*.- 2019.-V. 173.-P. 619–620.
280. Wang B., Guo H., Yu H., Chen Y., Xu H., Zhao G. The Role of the Transcription Factor EGR1 in Cancer // *Front. Oncol*.-2021.-V. 11.-P. 642547.
281. Wang B., Wang P., Parobchak N., Treff N., Tao X., Wang J., Rosen T. Integrated RNA-seq and ChIP-seq analysis reveals a feed-forward loop regulating H3K9ac and key labor drivers in human placenta // *Placenta*.-2019.-V. a:76.-P. 40–50.
282. Wang D., Sang H., Zhang K., Nie Y., Zhao S., Zhang Y. et al. Stat3 phosphorylation is required for embryonic stem cells ground state maintenance in 2i culture media // *Oncotarget*.-2017.-V. 8.-P. 31227–31237.
283. Wang F., Zhou Y., Fu B., Wu Y., Zhang R., Sun R., Tian Z., Wei H. Molecular signatures and transcriptional regulatory networks of human immature decidual NK and mature peripheral NK cells // *Eur. J. Immunol*.-2014.-V. 44.-P. 2771–2784.
284. Wang H., She G., Zhou W., Liu K., Miao J., Yu B. Expression profile of circular RNAs in placentas of women with gestational diabetes mellitus // *Endocr. J*.-2019.-V. b:66.-P. 431–441.
285. Wang J., Duncan D., Shi Z., Zhang B. WEB-based GEne SeT AnaLysis Toolkit (WebGestalt) // *Nucleic Acids Res*.-2013.-V. 41.-P. W77-83.
286. Wang J., Lu Z.X., Tokheim C.J., Miller S.E., Xing Y. Species-specific exon loss in human transcriptomes // *Mol. Biol. Evol*.-2015.-V. 32(2).-P. 481-494.
287. Wang W., Li Q., Bagchi I.C., Bagchi M.K. The CCAAT/enhancer binding protein β is a critical regulator of steroid-induced mitotic expansion of uterine stromal cells during decidualization // *Endocrinology*.-2010.-V. 151.-P. 3929-40.

288. Way G.P., Rudd J., Wang C., Hamidi H., Fridley B.L., Konecny G.E., Goode E.L., Greene C.S., Doherty J.A. Comprehensive Cross-Population Analysis of High-Grade Serous Ovarian Cancer Supports No More Than Three Subtypes // *G3*.-2016.-V. 6(12).-P. 4097-4103.
289. Weedon-Fekjaer M.S., Dalen K.T., Solaas K., Staff A.C., Duttaroy A.K., Nebb H.I. Activation of LXR increases acyl-CoA synthetase activity through direct regulation of ACSL3 in human placental trophoblast cells // *J. Lipid. Res.*-2010.-V. 51(7).-P. 1886-96.
290. Weedon-Fekjaer M.S., Dalen K.T., Solaas K., Staff A.C., Duttaroy A.K., Nebb H.I. Activation of LXR increases acyl-CoA synthetase activity through direct regulation of ACSL3 in human placental trophoblast cells // *J. Lipid. Res.*-2010.-V. 51(7).-P.1886-96.
291. Weiss G., Goldsmith L.T., Taylor R.N., Bellet D., Taylor H.S. Inflammation in reproductive disorders // *Reprod. Sci.*-2009.-V. 16(2).-P. 216–229.
292. Wen H., Chen L., He J., Lin J. MicroRNA expression profiles and networks in placentas complicated with selective intrauterine growth restriction // *Mol. Med. Rep.*-2017.-V. 16.-P. 6650–6673.
293. Whitehead A., Crawford D.L. Neutral and adaptive variation in gene expression // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*-2006.-103(14).-5425-30.
294. Whitehead A., Crawford D.L. Variation within and among species in gene expression: raw material for evolution // *Mol. Ecol.*-2006.-V. 15(5).-P. 1197-211.
295. Whitley G. S., Dash P. R., Ayling L. J., Prefumo F., Thilaganathan B., Cartwright J. E. Increased apoptosis in first trimester extravillous trophoblasts from pregnancies at higher risk of developing preeclampsia // *Am. J. Pathol.*-2007.-V. 170.-P. 1903–1909.
296. Whitney A.R., Diehn M., Popper S.J., Alizadeh A.A., Boldrick J.C., Relman D.A. et al. Individuality and variation in gene expression patterns in human blood // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*-2003.-V. 100(4).-P. 1896-901.
297. Wilson M.J., Lopez M., Vargas M. et al. Greater uterine artery blood flow during pregnancy in multigenerational (Andean) than shorter-term (European)

- highaltitude residents // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*-2007.-V. 293(3).-P. R1313-24.
298. Winn V.D., Gormley M., Paquet A.C., Kjaer-Sorensen K., Kramer A., Rumer K.K., Haimov-Kochman R., Yeh R.F., Overgaard M.T., Varki A. et al. Severe preeclampsia-related changes in gene expression at the maternal-fetal interface include sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin-6 and pappalysin-2 // *Endocrinology*.-2009.-V. 150.-P. 452–462.
299. Wolf M., Hubel C.A., Lam C. et al. Preeclampsia and future cardiovascular disease: potential role of altered angiogenesis and insulin resistance // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*-2004.-V. 89(12).-P. 6239-43.
300. Wolski H., Ożarowski M., Kurzawińska G., Bogacz A., Wolek M., Łuszczyńska M., Drews K., Mrozikiewicz A.E., Mikołajczak P.Ł., Kujawski R., Czerny B., Karpiński T.M., Seremak-Mrozikiewicz A. Expression of ABCA1 Transporter and LXRA/LXRB Receptors in Placenta of Women with Late Onset Preeclampsia // *J. Clin. Med.*-2022.-V. 11(16).-P. 4809.
301. Wolski H., Ożarowski M., Kurzawińska G., Bogacz A., Wolek M., Łuszczyńska M., Drews K., Mrozikiewicz A.E., Mikołajczak P.Ł., Kujawski R., Czerny B., Karpiński T.M., Seremak-Mrozikiewicz A. Expression of ABCA1 Transporter and LXRA/LXRB Receptors in Placenta of Women with Late Onset Preeclampsia // *J. Clin. Med.*-2022.-V. 11(16).- P. 4809.
302. Wong K., Levy-Sakin M., Kwok P.Y. De novo human genome assemblies reveal spectrum of alternative haplotypes in diverse populations // *Nat. Commun.*-2018.-V. 9(1).-P. 3040.
303. Wooderchak-Donahue W.L., McDonald J., O'Fallon B., Upton P.D., Li W., Roman B.L., Young S., Plant P., Fulop G.T., Langa C., Morrell N.W., Botella L.M., Bernabeu C., Stevenson D.A., Runo J.R., Bayrak-Toydemir. BMP9 mutations cause a vascular-anomaly syndrome with phenotypic overlap with hereditary hemorrhagic telangiectasia // *P. Am. J. Hum. Genet.*-2013.-V. 93.-P. 530-537.

304. Woods L., Perez-Garcia V., Hemberger M. Regulation of Placental Development and Its Impact on Fetal Growth-New Insights From Mouse Models // *Front Endocrinol. (Lausanne)*.-2018.-V. 9.-P. 570.
305. Wu H.Y., Liu K., Zhang J.L. LINC00240/miR-155 axis regulates function of trophoblasts and M2 macrophage polarization via modulating oxidative stress-induced pyroptosis in preeclampsia // *Mol. Med.*-2022.-V. 28(1).-P. 119.
306. Xiang Y., Cheng Y., Li X., Li Q., Xu J., Zhang J., Liu Y., Xing Q., Wang L., He L. et al. Up-regulated expression and aberrant DNA methylation of LEP and SH3PXD2A in pre-eclampsia // *PLoS One*.-2013.-V. 8.-P. e59753.
307. Xu C., Li X., Guo P., Wang J. Hypoxia-induced activation of JAK/STAT3 signaling pathway promotes trophoblast cell viability and angiogenesis in preeclampsia // *Med. Sci. Monit.*-2017.-V. 23.-P. 4909–4917.
308. Yang H.C., Lin C.W., Chen C.W., Chen J.J. Applying genome-wide gene-based expression quantitative trait locus mapping to study population ancestry and pharmacogenetics // *BMC Genomics*.-2014.-V. 15.-P. 319.
309. Yang J., Pearl M., DeLorenze G.N., Romero R., Dong Z., Jelliffe-Pawlowski L., Currier R., Flessel M., Kharrazi M. Racial-ethnic differences in midtrimester maternal serum levels of angiogenic and antiangiogenic factors // *Am. J. Obstet. Gynecol.*-2016.-V. 215(3).-P. e1-9.
310. Yang L., Liu C., Zhang C., Shang R., Zhang Y., Wu S., Long Y. LncRNA small nucleolar RNA host gene 5 inhibits trophoblast autophagy in preeclampsia by targeting microRNA-31-5p and promoting the transcription of secreted protein acidic and rich in cysteine // *Bioengineered*.-2022.-V. 13(3).-P. 7221-7237.
311. Yang N., Wang Q., Ding B., Gong Y., Wu Y., Sun J., Wang X., Liu L., Zhang F., Du D., Li X. Expression profiles and functions of ferroptosis-related genes in the placental tissue samples of early- and late-onset preeclampsia patients // *BMC Pregnancy Childbirth*.-2022.-V. 22(1).-P. 240.
312. Yang W.J., Yang D.D., Na S., Sandusky G.E., Zhang Q., Zhao G. Dicer is required for embryonic angiogenesis during mouse development // *J. Biol. Chem.*-2005.-V. 280.-P. 9330–9335.

313. Ye C.J., Feng T., Kwon H.K., Raj T., Wilson M.T., Asinovski N., McCabe C., Lee M.H., Frohlich I., Paik H.I., Zaitlen N., Hacohen N., Stranger B., De Jager P., Mathis D., Regev A., Benoist C. Intersection of population variation and autoimmunity genetics in human T cell activation // *Science*.-2014.-V. 345(6202).-P. 1254665.
314. Yeh C.C., Chao K.C., Huang S.J. Innate immunity, decidual cells, and preeclampsia // *Reprod. Sci.*-2013.-V. 20(4).-P. 339-53.
315. Yin L., Coelho S.G., Ebsen D., Smuda C., Mahns A., Miller S.A., Beer J.Z., Kolbe L., Hearing V.J. Epidermal gene expression and ethnic pigmentation variations among individuals of Asian, European and African ancestry // *Exp. Dermatol.*-2014.-V. 23(10).- P. 731-5.
316. Yong H.E., Melton P.E., Johnson M.P., Freed K.A., Kalionis B., Murthi P., Brennecke S.P., Keogh R.J., Moses E.K. Genome-wide transcriptome directed pathway analysis of maternal pre-eclampsia susceptibility genes // *PLoS One*.-2015.-V. 10.- P. e0128230.
317. Yoon S.I., Logsdon N.J., Sheikh F., Donnelly R.P., Walter M.R. Conformational changes mediate interleukin-10 receptor 2 (IL-10R2) binding to IL-10 and assembly of the signaling complex // *J. Biol. Chem.*-2006.-V. 281(46).-P. 35088-96.
318. Yuan Y. et al.. Analysis of Genome-Wide RNA-Sequencing Data Suggests Age of the CEPH/Utah (CEU) Lymphoblastoid Cell Lines Systematically Biases Gene Expression Profiles // *Sci. Rep.*-2015.-V. 5.-P. 7960.
319. Žarković M., Hufsky F., Markert U.R., Marz M. The Role of Non-Coding RNAs in the Human Placenta // *Cells*.-2022.- V. 11(9).- P. 1588.
320. Zhang J., Dunk C.E., Shynlova O., Caniggia I., Lye S.J. TGFβ1 suppresses the activation of distinct dNK subpopulations in preeclampsia // *EBioMedicine*.-2019.-V. 39.-P. 531-539.
321. Zhang N., Tan J., Yang H., Khalil R.A. Comparative risks and predictors of preeclamptic pregnancy in the Eastern, Western and developing world // *Biochem. Pharmacol.*-2020.-V. 182.-P. 114247.

322. Zhang W., Duan S., Kistner E.O., Bleibel W.K., Huang R.S., Clark T.A. et al. Evaluation of genetic variation contributing to differences in gene expression between populations // *Am. J. Hum. Genet.*- 2008.-V. 82(3).- P.631–640.
323. Zhang Y., Chen H., Sun C. et al. Expression and functional characterization of NOD2 in decidual stromal cells isolated during the first trimester of pregnancy // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – № 6. – P. e99612.
324. Zheng Q., Wang X.J. GOEAST: a web-based software toolkit for Gene Ontology enrichment analysis // *Nucleic Acids Res.*-2008.-V. 36.-P. W358-63.
325. Zhou J., Febbraio M., Wada T., Zhai Y., Kuruba R., He J., Lee J. H., Khadem S., Ren S., Li S., et al. Hepatic fatty acid transporter Cd36 is a common target of LXR, PXR, and PPARgamma in promoting steatosis // *Gastroenterology.*- 2008.- V. 134.-P. 556–567.
326. Zhou R., Zhu Q., Wang Y., Ren Y., Zhang L., Zhou Y. Genomewide oligonucleotide microarray analysis on placentae of pre-eclamptic pregnancies // *Gynecol. Obstet. Invest.*-2006.-V. 62.-P. 108–114.
327. Zhou W., Wang H., Wu X., Long W., Zheng F., Kong J., Yu B. The profile analysis of circular RNAs in human placenta of preeclampsia // *Exp. Biol. Med. (Maywood).*-2018.-V. 243.-P. 1109–1117.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А1 - Характеристика дифференциально экспрессирующихся генов у русских при ФБ и ПЭ

Наиболее гипозэкспрессирующиеся ДЭГ у русских женщин при ПЭ (ТОР-10)								
Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	P-уровень
ENSG00000224271.7	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	EPIC1	22	47630827	48023004	индуцированный МҮС, взаимодействующий с днРНК 1	5,114462	1,71E-05
ENSG00000186081.12	Белок-кодирующие (protein_coding)	KRT5	12	52514575	52520530	Кератин 5	4,284896	1,84E-05
ENSG00000286044.1	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)		11	1,22E+08	1,22E+08	Новый транскрипт	3,456965	0,004312
ENSG00000164687.11	Белок-кодирующие (protein_coding)	FABP5	8	81280536	81284777	белок, связывающий жирные кислоты 5	3,444828	6,14E-08

Продолжение таблицы A1.

Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue
ENSG00000162687.19	Белок-кодирующие (protein_coding)	KCNT2	1	1,96E+08	1,97E+08	член 2 подсемейства калий-натриевых каналов	3,278689	0,002525
ENSG00000169851.15	Белок-кодирующие (protein_coding)	PCDH7	4	30720369	31146805	протокадгерин 7	3,259761	<0,000114
ENSG00000164434.12	Белок-кодирующие (protein_coding)	FABP7	6	1,23E+08	1,23E+08	белок, связывающий жирные кислоты 7	3,178712	0,007653
ENSG00000080709.16	Белок-кодирующие (protein_coding)	KCNN2	5	1,14E+08	1,14E+08	2 член подсемейства калий-кальциевых каналов	3,122601	<0,000196
ENSG00000184860.10	Белок-кодирующие (protein_coding)	SDR42E1	16	81988855	82011481	Семейство короткоцепочечных дегидрогеназ/редуктаз 42E, член 1	3,038689	0,002209

Продолжение таблицы А1.

Наиболее гиперэкспрессирующиеся ДЭГ у русских женщин при ПЭ (ТОР-10)								
Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	P-уровень
ENSG00000214575.10	Белок-кодирующие (protein_coding)	NCAM1	11	1,13E+08	1,13E+08	молекула адгезии нервных клеток 1	-3,44921	7,81E-05
ENSG00000286171.1	Малые ядерные РНК (snRNA)	RNU6-6P	10	13217269	13217375	РНК, малый ядерный 6 U6, псевдоген	-2,66217	0,009061
ENSG00000201059.1	Белок-кодирующие (protein_coding)	CPEB1	15	82543201	82648861	цитоплазматический элемент полиаденилирования, связывающий белок 1	-2,61422	0,007029
ENSG00000172543.9	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)		9	35012963	35016076	Новый транскрипт	-2,49786	0,001046
ENSG00000199990.1	Инактивированные гены рРНК (rRNA_pseudogene)	RNA5SP336	11	21000881	21000997	РНК, 5S рибосомный псевдоген 336	-2,47131	7,57E-05

Окончание таблицы А1.

Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	P-уровень
ENSG0000026788 6.1	Белок-кодирующие (protein_coding)	CTSW	11	65879809	65883741	катепсин W	-2,44451	0,003035
ENSG0000028678 2.1	Неидентифицированная РНК (misc_RNA)	VTRNA 1-1	5	1,41E+08	1,41E+08	Депонированная РНК 1-1	-2,36821	<0,0001492
ENSG0000020015 6.1	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	AC074135	7	1,49E+08	1,49E+08	РНК, Ro-ассоциированный Y5	-2,34685	0,007872
ENSG0000021018 4.1	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)		19	23075201	23100361	Новый транскрипт	-2,33042	0,003759
ENSG0000026007 5.1	Малые ядерные РНК (snRNA)	RNU5B-1	15	65304677	65304792	РНК, малая ядерная U5B 1	-2,32546	<0,0001454
ENSG0000014929 4.17	Митохондриальная рРНК (Mt_rRNA)	MT-TS2	MT	12207	12265	митохондриально кодируемая тРНК-Ser	-2,31471	3,64E-05

Таблица А2 - Характеристика дифференциально экспрессирующихся генов у бурят при ФБ и ПЭ

Наиболее гипозэкспрессирующиеся транскрипты у бурят при ПЭ(TOP-10)								
Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	P-уровень
ENSG00000153495	Белок-кодирующие (Белок-кодирующие (protein_coding))	TEX29	13	1,11E+08	1,11E+08	Ген, экспрессирующийся в яичках 29	6,790256	0,002099
ENSG00000142178	Белок-кодирующие (Белок-кодирующие (protein_coding))	SIK1	21	43414483	43427131	Соле-индуцируемая киназа 1	6,532669	<0,0001336
ENSG00000228262	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	LINC01320	2	33706886	34738231	длинная межгенная некодирующая белок РНК 1320	4,428669	6,56E-08
ENSG00000284823	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	AL356747	6	4714098	4724885	Новый транскрипт	4,044743	3,46E-06
ENSG00000033122	Белок-кодирующие (Белок-кодирующие (protein_coding))	LRRC7	1	69567922	70151945	богатый лейцином повтор, содержащий 7	3,721648	0,001979
ENSG00000007062	Белок-кодирующие (protein_coding)	PROM1	4	15963076	16084378	промнин 1	3,651824	2,66E-06

Продолжение таблицы A2.

Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	P-уровень
ENSG00000218048	Непроцессированные псевдогены (unprocessed_pseudogene)	AL121949	6	63440766	63443580	богатый лейцином повтор, содержащий псевдоген 59 (LRRC59)	3,622972	0,001232
ENSG00000289133	Транскрибируемые процессированные псевдогены (transcribed_processed_pseudogene)		13	21287634	21287828	Семейство анкириновых доменов POTE, представитель псевдогена C (POTEC)	3,56046	<0,0001513
ENSG00000170579	Белок-кодирующие (protein_coding)	DLGAP1	18	3496032	4455307	DLG-ассоциированный белок 1	3,447402	4,88E-06
ENSG00000173077	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	DELEC1	9	1,15E+08	1,15E+08	Ген, выделенный при раке пищевода 1	3,389495	0,002491

Продолжение таблицы А2.

Наиболее гиперэкспрессирующиеся транскрипты у бурят при ПЭ (ТОР-10)								
Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	P-уровень
ENSG00000019169	Белок-кодирующие (protein_coding)	MARCO	2	1,19E+08	1,19E+08	рецептор макрофагов с коллагеновой структурой	-3,50028	0,001108
ENSG00000167916	Белок-кодирующие (protein_coding)	KRT24	17	40697991	40703752	кератин 24	-3,50028	1,40E-05
ENSG00000232342	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)		10	74506081	74530553	Новый транскрипт	-3,41991	2,04E-08
ENSG00000199568	Малые ядерные РНК (snRNA)	RNU5A-1	15	65296051	65296166	РНК, малая ядерная U5A 1	-3,3563	4,99E-05
ENSG00000272055	Малые ядерные РНК (snRNA)	RNU6-6P	10	13217269	13217375	РНК, малый ядерный 6 U6, псевдоген	-3,34799	5,66E-06
ENSG00000210154	Митохондриальная тРНК (Mt_tRNA)	MT-TD	MT	7518	7585	митохондриально кодируемая тРНК-Asp (GAU/C)	-3,34547	2,07E-05

Окончание таблицы А2.

Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	P-уровень
ENSG00000252316	Неидентифицированная РНК (misc_RNA)	RNY4	7	1,49E+08	1,49E+08	РНК, Ro60-ассоциированный Y4	-3,31624	<0,0001784
ENSG00000210077	Митохондриальная тРНК (Mt_tRNA)	MT-TV	MT	1602	1670	митохондриально кодируемая тРНК-Val (GUN)	-3,24147	1,32E-05
ENSG00000210100	Митохондриальная тРНК (Mt_tRNA)	MT-TI	MT	4263	4331	митохондриально кодируемая тРНК-Изолейцин (AUU/C)	-3,239	1,11E-07
ENSG00000199839	pРНК (rRNA)	RNA5SP150	3	1,82E+08	1,82E+08	РНК, 5S рибосомный псевдоген 150	-3,23792	<0,0001424

Таблица А3 - Характеристика дифференциально экспрессирующихся генов у русских и бурят при ФБ

Наиболее гиперэкспрессирующиеся транскрипты при ФБ у русских (TOP-10)								
Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue
ENSG00000224271	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	EPIC1	22	47630827	48023004	индуцированный MYC, взаимодействующий с днРНК 1	2,910749	0,008652
ENSG00000261734	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	AC116096	3	20388249	20390562	Новый транскрипт	2,633895	0,009491
ENSG00000169851	Белок-кодирующие (protein_coding)	PCDH7	4	30720369	31146805	протокадгерин 7	2,569397	1,49E-05
ENSG00000159516	Белок-кодирующие (protein_coding)	SPRR2G	1	1,53E+08	1,53E+08	небольшой белок, богатый пролином 2G	2,517513	<0,0001396
ENSG00000174697	Белок-кодирующие (protein_coding)	LEP	7	1,28E+08	1,28E+08	лептин	2,384757	<0,0001432
ENSG00000226005	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	LINC02660	10	3911889	3941506	длинная межгенная некодирующая белок РНК 2660	2,346721	0,002711

Продолжение таблицы А3.

Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue
ENSG00000184227	Белок-кодирующие (protein_coding)	ACOT1	14	73537143	73543796		2,28104	0,007081
ENSG00000256812	Белок-кодирующие (protein_coding)	CAPNS2	16	55566684	55567687	кальпаин малая субъединица 2	2,266162	0,008782
ENSG00000204622	Транскрибируемые непроцессированные псевдогены (transcribed_unprocessed_pseudogene)	HLA-J	6	30006606	30009539	главный комплекс гистосовместимости, класс I, J (псевдоген)	2,156479	0,002889
ENSG00000206579	Белок-кодирующие (protein_coding)	XKR4	8	55102028	55542054	ХК4	2,144604	0,003001
Наиболее гипохеэкспрессирующиеся транскрипты при ФБ у русских (TOP-10)								
Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue

Продолжение таблицы А3.

Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue
ENSG00000214575	Белок-кодирующие (protein_coding)	CPEB1	15	82543201	82648861	цитоплазматический элемент полиаденилирования, связывающий белок 1	-2,69521	0,003073
ENSG00000196890	Белок-кодирующие (protein_coding)	H2BC26	1	2,28E+08	2,28E+08	H2B сгруппированный гистон 26	-2,42161	<0,0001296
ENSG00000179059	Белок-кодирующие (protein_coding)	ZFP42	4	1,88E+08	1,88E+08	Белок цинковых пальцев ZFP42	-2,20773	<0,0001775
ENSG00000200959	Малые ядрышковые РНК (snoRNA)	SNORA74A	5	1,39E+08	1,39E+08	малая ядрышковая РНК, H/ACA 74A	-2,20773	2,75E-05
ENSG00000149294	Белок-кодирующие (protein_coding)	NCAM1	11	1,13E+08	1,13E+08	молекула адгезии нервных клеток 1	-2,20572	0,009424
ENSG00000207475	Малые ядрышковые РНК (snoRNA)	SNORA80E	1	1,56E+08	1,56E+08	малая ядрышковая РНК, H/ACA 80E	-2,12439	9,66E-06

Окончание таблицы А3.

Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue
ENSG00000251301	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	LINC02384	12	68332888	68451679	длинная межгенная некодирующая белок РНК 2384	- 2,0381	0,00331
ENSG00000200156	Малые ядерные РНК (snRNA)	RNU5B-1	15	65304677	65304792	РНК, малая ядерная U5B 1	- 2,03183	<0,0001532
ENSG00000272055	Малые ядерные РНК (snRNA)	RNU6-6P	10	13217269	13217375	РНК, малый ядерный 6 U6, псевдоген	- 2,02237	2,12E-05
ENSG00000185710	transcribed_unprocessed_pseudogene	SMG1P4	16	21879338	21916024	Псевдоген SMG1 4	- 2,01662	0,008603

Таблица А4 - Характеристика дифференциально экспрессирующихся генов у русских и бурят при ПЭ

Наиболее гиперэкспрессирующиеся транскрипты (TOP-10)								
Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue
ENSG00000142178	Белок-кодирующие (protein_coding)	SIK1	21	43414483	43427131	Соле-индуцируемая киназа 1	7,64424	0,001368
ENSG00000153495	Белок-кодирующие (protein_coding)	TEX29	13	1,11E+08	1,11E+08	Ген,экспрессирующийся в яичках 29	6,635438	2,02E-08
ENSG00000284823	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	AL356747	6	4714098	4724885	Новый транскрипт	4,215682	<0,0001759
ENSG00000267886	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	AC074135	19	23075201	23100361	Новый транскрипт	4,012656	8,35E-05
ENSG00000218048	непроцессированные псевдогены (unprocessed_pseudogene)		6	63440766	63443580	богатый лейцином повтор, содержащий псевдоген 59 (LRRC59)	3,975081	<0,0001314

Продолжение таблицы А4.

Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue
ENSG00000214575	Белок-кодирующие (protein_coding)	CPEB1	15	82543201	82648861	цитоплазматический элемент полиаденилирования, связывающий белок 1	3,858748	0,007182
ENSG00000101144	Белок-кодирующие (protein_coding)	BMP7	20	57168753	57266641	костный морфогенетический белок 7	3,153952	0,001812
ENSG00000175820	Белок-кодирующие (protein_coding)	CCDC168	13	1,03E+08	1,03E+08	спиральный домен 168	3,120858	0,005995
ENSG00000146556	Транскрибируемые непроцессированные псевдогены (transcribed_unprocessed_pseudogene)	WASH2P	2	1,14E+08	1,14E+08	Гомолог 2 семейства WASP, псевдоген	3,08027	1,26E-05
ENSG00000173077	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	DELEC1	9	1,15E+08	1,15E+08	Ген, выделенный при раке пищевода 1	3,006145	1,25E-05

Продолжение таблицы А4.

Наиболее гипохспрессирующиеся транскрипты (TOP-10)								
Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue
ENSG00000171560	Белок-кодирующие (protein_coding)	FGA	4	1,55E+08	1,55E+08	альфа-цепь фибриногена	-6,34866	0,004143
ENSG00000161905	Белок-кодирующие (protein_coding)	ALOX15	17	4630919	4642294	арахидонат-15-липоксигеназа	-4,72	0,00169
ENSG00000186081	Белок-кодирующие (protein_coding)	KRT5	12	52514575	52520530	Кератин 5	-4,47584	0,007102
ENSG00000164434	Белок-кодирующие (protein_coding)	FABP7	6	1,23E+08	1,23E+08	белок, связывающий жирные кислоты 7	-4,10847	1,15E-06
ENSG00000167916	Белок-кодирующие (protein_coding)	KRT24	17	40697991	40703752	Кератин 24	-4,02273	0,003973
ENSG00000164687	Белок-кодирующие (protein_coding)	FABP5	8	81280536	81284777	белок, связывающий жирные кислоты 5	-3,92413	0,003188

Окончание таблицы А4.

Транскрипт	Тип транскрипта	Ген	Хромосома	Начальная позиция (п.о.)	Конечная позиция (п.о.)	Описание гена	log2FC	pvalue
ENSG00000233913	Процессированные псевдогены (processed_pseudogene)	RPL10P9	5	1,69E+08	1,69E+08	рибосомный белок L10 псевдоген 9	- 3,78249	<0,0001236
ENSG00000249379	Длинные некодирующие РНК (lincRNA)	AL033397	6	53503109	53507660	Новый транскрипт	- 3,6956	4,74E-05
ENSG00000184022	Белок-кодирующие (protein_coding)	OR2T10	1	2,49E+08	2,49E+08	семейство обонятельных рецепторов 2 подсемейство Т член 10	- 3,69264	<0,0001495
ENSG00000185710	Транскрибируемые непроцессированные псевдогены (transcribed_unprocessed_pseudogene)	SMG1P4	16	21879338	21916024	Псевдоген SMG1 4	- 3,55809	0,002089

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б1 – Функциональные пути, характерные для генов направленного отбора в группе с ФБ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0045540	регуляция биосинтеза холестерина	43	4	22,799	<0,0001	0,126
GO:0106118	регуляция биосинтеза стеролов	43	4	22,799	<0,0001	0,126
GO:0090181	регуляция метаболизма холестерина	56	4	17,506	<0,0001	0,212
GO:0006790	метаболизм производных серы	354	8	5,539	<0,0001	0,212
GO:0006695	биосинтез холестерина	67	4	14,632	<0,0001	0,257
GO:1902653	биосинтез вторичных спиртов	68	4	14,417	<0,0001	0,257
GO:0016126	биосинтез стеролов	73	4	13,429	<0,0001	0,267
GO:1902930	регуляция биосинтеза спирта	74	4	13,248	<0,0001	0,267
GO:0050810	регуляция биосинтеза стероидов	84	4	11,671	<0,0001	0,386
GO:0044281	метаболизм молекул малого размера	1960	18	2,251	0,001	0,606

Таблица Б2 – Функциональные пути, характерные для генов направленного отбора в группе с ПЭ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0007178	сигнальный путь трансмембранного серин/треонинкиназного рецептора	328	11	4,367	<0,0001	0,397
GO:0060391	позитивная регуляция передачи сигнала белком SMAD	12	3	32,551	<0,0001	0,397
GO:0060389	фосфорилирование белка SMAD	64	5	10,172	<0,0001	0,397
GO:0007179	сигнальный путь рецептора трансформирующего фактора роста	182	7	5,008	0,001	0,816
GO:0060390	регуляция передачи сигнала белка SMAD	21	3	18,600	0,001	0,816
GO:0061383	морфогенез трабекул	49	4	10,629	0,001	0,816
GO:0045216	организация межклеточного пространства	153	6	5,106	0,001	0,918
GO:0006457	фолдинг белка	210	7	4,340	0,001	0,918
GO:0060393	регуляция фосфорилирования белка SMAD	61	4	8,538	0,001	0,918
GO:0014070	реакция на органические циклические производные	905	16	2,302	0,002	0,918

Таблица Б3 – Функциональные пути, характерные для генов балансирующего отбора в группе с ФБ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0045862	позитивная регуляция протеолиза	343	10	4,049	<0,001	0,950
GO:0042982	метаболический процесс белка-предшественника амилоида	51	4	10,893	<0,001	0,950
GO:007049	клеточный цикл	1739	25	1,997	0,001	0,950
GO:0099173	постсинаптическая организация	158	6	5,274	0,001	0,950
GO:0000278	митотический клеточный цикл	927	16	2,397	0,001	0,950
GO:0048539	развитие костного мозга	8	2	34,721	0,001	0,950
GO:0055114	окислительно-восстановительные реакции	968	16	2,296	0,002	0,950
GO:0006470	дефосфорилирование белков	306	8	3,631	0,002	0,950
GO:0034405	ответ на движение жидкости	33	3	12,626	0,002	0,950
GO:0006002	метаболизм фруктозо-6-фосфата	9	2	30,863	0,002	0,950

Таблица Б4 – Функциональные пути, характерные для генов балансирующего отбора в группе с ПЭ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0006825	транспорт ионов меди	18	3	21,204	<0,0001	1,000
GO:1901563	ответ на камптотецин	5	2	50,889	0,001	1,000
GO:0090594	воспалительная реакция на ранение	8	2	31,805	0,002	1,000
GO:0006449	регулирование терминации трансляции	8	2	31,805	0,002	1,000
GO:0021532	паттерн нервной трубки	40	3	9,542	0,004	1,000
GO:2001198	регуляция дифференцировки дендритных клеток	12	2	21,204	0,004	1,000
GO:0006568	процесс метаболизма триптофана	12	2	21,204	0,004	1,000
GO:0006091	образование предшественников метаболитов и энергии	469	10	2,713	0,004	1,000
GO:1901137	процесс биосинтеза углеводного производного	712	13	2,323	0,004	1,000
GO:0051056	регуляция опосредованной малой ГТФазой передачи сигнала	331	8	3,075	0,005	1,000

Таблица Б5 – Функциональные пути, характерные для генов стабилизирующего отбора в группе с ФБ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0051321	мейотический клеточный цикл	248	5	7,814	<0,0001	1,000
GO:0006390	митохондриальная транскрипция	15	2	51,678	0,001	1,000
GO:0007049	клеточный цикл	1739	12	2,675	0,001	1,000
GO:1903046	процесс мейотического клеточного цикла	186	4	8,335	0,001	1,000
GO:0042454	катаболический процесс рибонуклеозидов	22	2	35,235	0,001	1,000
GO:0061982	мейоз I процесс клеточного цикла	116	3	10,024	0,003	1,000
GO:0009164	нуклеозидный катаболический процесс	34	2	22,799	0,003	1,000
GO:0022402	процесс клеточного цикла	1274	9	2,738	0,005	1,000
GO:0000959	процесс метаболизма митохондриальной РНК	41	2	18,906	0,005	1,000
GO:0042088	Т-хелперный 1 тип иммунного ответа	42	2	18,456	0,005	1,000

Таблица Б6 – Функциональные пути, характерные для генов стабилизирующего отбора в группе с ПЭ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0015791	транспорт полиолов	11	2	64,472	<0,0001	1,000
GO:000086	переход фаз G2/М митотического цикла	194	4	7,311	0,002	1,000
GO:0044772	фазовый переход митотического клеточного цикла	487	6	4,369	0,002	1,000
GO:0044839	клеточный цикл G2/М фазовый переход	213	4	6,659	0,003	1,000
GO:0044770	фазовый переход клеточного цикла	526	6	4,045	0,003	1,000
GO:0006270	инициация репликации ДНК	32	2	22,162	0,004	1,000
GO:0015850	транспорт органических гидроксильных соединений	240	4	5,910	0,005	1,000
GO:01902904	негативная регуляция организации надмолекулярных волокон	127	3	8,376	0,005	1,000
GO:0032873	негативная регуляция MAPK каскада	44	2	16,118	0,007	1,000
GO:0070303	негативная регуляция стресс-активируемого сигнального каскада протеинкиназы	44	2	16,118	0,007	1,000

Таблица Б7 – Функциональные пути, характерные для генов дизруптивного отбора в группе с ФБ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0043062	организация внеклеточной структуры	400	35	11,856	<0,0001	<0,0001
GO:0030198	организация внеклеточного матрикса	347	34	13,276	<0,0001	<0,0001
GO:0007167	сигнальный путь рецептора, связанного с ферментом	989	36	4,932	<0,0001	<0,0001
GO:0007155	адгезия клеток	1369	40	3,959	<0,0001	<0,0001
GO:0022610	биологическая адгезия	1377	40	3,936	<0,0001	<0,0001
GO:0043687	посттрансляционная модификация белка	360	20	7,528	<0,0001	<0,0001
GO:0072359	развитие кровеносной системы	1026	31	4,094	<0,0001	<0,0001
GO:0001568	развитие кровеносных сосудов	654	25	5,180	<0,0001	<0,0001
GO:0001944	развитие сосудистой системы	682	25	4,967	<0,0001	<0,0001
GO:0072358	развитие сердечно-сосудистой системы	691	25	4,902	<0,0001	<0,0001

Таблица Б8 – Функциональные пути, характерные для генов дизруптивного отбора в группе с ПЭ

Номер категории	Название категории	Количество генов в категории	Количество генов ДЭГ	Коэффициент обогащения	p-value	FD R
GO:0007167	сигнальный путь белка рецептора, связанного с ферментом	989	40	5,392	<0,0001	<0,0001
GO:0043062	организация внеклеточной структуры	400	37	12,333	<0,0001	<0,0001
GO:0030198	организация внеклеточного матрикса	347	36	13,832	<0,0001	<0,0001
GO:0022610	биологическая адгезия	1377	43	4,163	<0,0001	<0,0001
GO:0007155	адгезия клеток	1369	43	4,188	<0,0001	<0,0001
GO:0043687	посттрансляционная модификация белка	360	21	7,777	<0,0001	<0,0001
GO:0072359	развитие кровеносной системы	1026	33	4,288	<0,0001	<0,0001
GO:0001944	развитие сосудистой системы	682	27	5,278	<0,0001	<0,0001
GO:0072358	развитие сердечно-сосудистой системы	691	27	5,210	<0,0001	<0,0001
GO:0001568	развитие кровеносных сосудов	654	26	5,301	<0,0001	<0,0001

БЛАГОДАРНОСТИ

Прежде всего, хочу поблагодарить доктора биологических наук, академика РАН, профессора Вадима Анатольевича Степанова за предоставленную возможность участия в интересной исследовательской работе, критические замечания и мудрые советы, а также помощь при планировании и выполнении исследования.

Также выражаю глубокую признательность научному руководителю, кандидату медицинских наук, старшему научному сотруднику лаборатории эволюционной генетики Трифоновой Екатерине Александровне за формирование моих научных интересов, неоценимую помощь на всех этапах выполнения исследования, ценные советы и рекомендации при обсуждении работы, а также значительную поддержку на протяжении моей научной карьеры.

Выражаю благодарность коллективу научной лаборатории эволюционной генетики за неоценимую помощь в освоении методик, реализации экспериментов, а также теплые слова поддержки. Хотелось бы выразить признательность научным сотрудникам НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, всегда готовым поделиться своими знаниями и дать ценные практические рекомендации, а также создающим комфортную обстановку доверительных профессиональных отношений. Благодарю доктора медицинских наук, члена-корреспондента РАН, профессора Рычкову Любовь Владимировну, а также врачей из Областных перинатальных центров Иркутска и Улан - Удэ за сотрудничество и предоставленный ими материал для выполнения настоящего исследования. Кроме того, хотелось бы выразить благодарность моим родным и близким людям, которые оказывали поддержку в период написания данной рукописи, а также на протяжении всей моей профессиональной деятельности.