

Статья поступила в редакцию 20.03.2024 г.

Казачков Е.Л., Казачкова Э.А., Чижовская А.В., Веряскина Ю.А., Семёнов Ю.А.,
Жарова Н.В., Семёнов А.Ю.

Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск, Россия,

Институт молекулярной и клеточной биологии, г. Новосибирск, Россия,

Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, Россия

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ РЯДА МИКРОРНК В ПЛАЦЕНТАХ ПРИ АНТЕНАТАЛЬНОЙ СМЕРТИ ПЛОДА И ЖИВОРОЖДЕНИИ НА ДОНОШЕННОМ СРОКЕ БЕРЕМЕННОСТИ

В настоящее время большое внимание уделяется процессу формирования плаценты, изучаются механизмы, влияющие на него или осуществляющие регуляцию. Очевидно, что нарушение данного процесса, особенно на раннем этапе развития, приводит к структурным и функциональным дефектам плаценты. Это, в свою очередь, обуславливает развитие таких осложнений беременности, как преэклампсия, задержка роста плода, преждевременные роды, а также отрицательные перинатальные исходы.

Один из основных механизмов, регулирующих формирование и развитие плаценты, – генетический. Эпигенетические структуры, такие как микроРНК, контролируют экспрессию генов без изменения последовательности ДНК, и в настоящее время считаются главным звеном патогенеза плацентарной недостаточности и связанными с ней осложнениями беременности. МикроРНК представляют собой небольшие молекулы РНК (до 25 нуклеотидов), транскрибируемые с геномной ДНК и экспортируемые в цитоплазму клетки. В настоящее время определено, что в геноме человека закодировано несколько тысяч микроРНК, представляющих собой регуляторную сеть, которая через различные сигнальные пути воздействует на клеточные процессы. Нарушения микроРНК-регуляции приводят к развитию широкого спектра заболеваний, в том числе и во время беременности. Изучение изменения уровней экспрессии микроРНК, участвующих в регуляции процессов формирования и созревания плаценты, необходимо для понимания танатогенеза одного из самых трудно прогнозируемых осложнений беременности – антенатальной смерти доношенного плода.

Цель исследования – провести сравнительный анализ уровня экспрессии ряда микроРНК в плацентах пациенток при антенатальной смерти плода и живорождении в исходе своевременных родов.

Материалы и методы. Проведено молекулярно-биологические исследование образцов плацентарной ткани от 60 пациенток: 30 пациенток с антенатальной смертью плода на доношенном сроке беременности (группа А) и 30 пациенток с живорождением в исходе доношенной беременности (группа В). Последовательно проводили депарафинизацию тканевых образцов, экстракцию РНК, реакцию обратной транскрипции и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени. Изучен и проведен сравнительный анализ уровня экспрессии 18 микроРНК (-21, -23а, -26а, -29b, -31, -100, -125b, -126, -128, -150, -191, -204, -221, -223, -451, -1246, -let7а, -U6).

Результаты. Установлено, что при антенатальной смерти доношенного плода статистически значимо снижаются уровни экспрессии нескольких микроРНК: -21, -23а, -26а, -29b, -100, -125b, -126, -150, -191, -451, -let7а. При этом, снижение уровня экспрессии связано с возникновением антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности, несмотря на то, что данные микроРНК принимают непосредственное участие в регуляции процессов формирования и развития плаценты.

Заключение. Таким образом, изменение уровня экспрессии микроРНК-126, -29b, -21, -26а, -100 и let-7а приводит к нарушению процессов апоптоза и иммунного ответа в клетках плаценты, которые имеют существенное значение при антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности.

Ключевые слова: антенатальная смерть доношенного плода; экспрессия микроРНК; плацента; молекулярно-биологическое исследование

Kazachkov E.L., Kazachkova E.A., Chizhovskaya A.V., Veryaskina Yu.A., Semenov Yu.A., Zharova N.V., Semenov A.Yu.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia,
Institute of Molecular and Cellular Biology, Novosibirsk, Russia,
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

LEVEL OF EXPRESSION OF MICRORNA IN PLACENTA AT ANTENATAL FETAL DEATH AND LIVE BIRTH AT FULL TERM OF PREGNANCY

At present, much attention is focused on the placental formation process and the mechanisms that influence or regulate it. It is evident that disruption of the process, especially in early stages of development, leads to structural and functional defects of the placenta. This, in turn, leads to pregnancy complications such as preeclampsia, fetal growth retardation, premature

Информация для цитирования:



10.24412/2686-7338-2024-2-12-19



ENLVA

Казачков Е.Л., Казачкова Э.А., Чижовская А.В., Веряскина Ю.А., Семёнов Ю.А., Жарова Н.В., Семёнов А.Ю. УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ РЯДА МИКРОРНК В ПЛАЦЕНТАХ ПРИ АНТЕНАТАЛЬНОЙ СМЕРТИ ПЛОДА И ЖИВОРОЖДЕНИИ НА ДОНОШЕННОМ СРОКЕ БЕРЕМЕННОСТИ //Мать и Дитя в Кузбассе. 2024. №2(97). С. 12-19.



births and negative perinatal outcomes. One of the main mechanisms regulating placenta formation and development is genetic. Epigenetic structures, such as miRNAs, control gene expression without altering the DNA sequence, and considered to be the primary pathogenesis of placental insufficiency and the associated complications of pregnancy. MiRNA are small RNA molecules (up to 25 nucleotides) transcribed with genomic DNA and exported to cytoplasm cells. Several thousand miRNAs are encoded in the human genome, representing a regulatory network that acts on cellular processes through various signaling pathways. MiRNA disorders lead to a wide range of diseases, including pregnancy complications. The study of changes in miRNA expression levels involved in the regulation of placental formation and growth is necessary to understand thanatogenesis of one of the most difficult-to-predict complications of pregnancy - antenatal death of the full-term fetus.

The aim of the research. Conduct a comparative analysis of the level of expression of a number of miRNAs in the placenta of patients with antenatal fetal death and live birth in the outcome of timely delivery.

Materials and methods. A molecular biological study of placental tissue samples from 60 patients was conducted: 30 patients with antenatal fetal death (Group A) and 30 patients with a live birth in pre-term pregnancy (Group B). Consistently, tissue samples were dewaxed, RNA extraction, reverse transcription reaction and polymerase chain reaction (PCR) were carried out in real time. A comparative analysis of the expression level of 18 microRNAs was studied and carried out: -21, -23a, -26a, -29b, -31, -100, -125b, -126, -128, -150, -191, -204, -221, -223, -451, -1246, -let7a, -U6.

Results. Mostly antenatal death of the full-term fetus was accompanied by signs of chronic placental insufficiency and hypoxic damage to the stromal-vascular placental part. There has been a statistically significant decrease in GLUT-1 expression and an increase in HIF-1 and CASP-3 expression in placenta of patients with antenatal fetal death in full-term pregnancy.

Conclusion. Thus, changes in microRNA-126, -29b, -21, -26a, -100, and let-7a have been shown to disrupt the processes of apoptosis and immune response in placental cells, which are essential in antenatal fetal death at the full-term of pregnancy.

Key words: antenatal death of full-term fetus; expression of miRNA; placenta; molecular biological study

В 2022 году было завершено полное секвенирование генома человека, выявившее около 23 тысяч генов, кодирующих белки и различные виды РНК, но они составляют лишь 1,5 % от всех последовательностей ДНК организма. Исследованиями последних лет установлено [1], что большая часть генома человека состоит из последовательностей ДНК, не кодирующих белки. Первоначальная парадигма о том, что такие последовательности являются не функциональными, не подтвердилась, что и потенцировало изучение роли некодирующей ДНК и РНК в раннем эмбриогенезе человека [1]. Материнские РНК и белки способствуют программированию тотипотентного оплодотворенного ооцита, необходимы для развития эмбриона до начала транскрипции зиготической РНК, поэтому их клиренс имеет важное значение. Принимая во внимание тот факт, что более 60 % генов, кодирующих белки человека, содержат как минимум один сайт связывания микроРНК [2], логично предположить, что экспрессия этих генов может зависеть именно от микроРНК. Вместе с тем известно [3], что формирование плаценты контролируется различными видами микроРНК, дисрегуляция которых приводит к дисфункции плаценты, что напрямую связано с осложнениями беременности.

МикроРНК — это короткая последовательность нуклеотидов (от 18 до 25), представляющая собой молекулу некодирующей РНК, которые осуществляют посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов, зачастую посредством обратной отрицательной связи [4]. Сегодня обнаружены 762 микроРНК, экспрессирующихся трофобластами плаценты [5]. Экспрессия микроРНК в трофобластах опосредуется различными факторами: эндокринными нарушениями, гипоксией, токсическими веществами и металлами, недостатком пищевых макро- и микронутриентов [4]. Так, моно-(2-этилгексил) фталат и бисфенол А индуцируют микроРНК-17-5p, микроРНК-155-5p, микроРНК-126-3p и микроРНК-146a, потенцируют апоптоз плацентарных клеток первого триместра беременности

(HTR8/SVneo-клеток) и подавляют функциональную активность трофобласта [6], что безусловно значимо для развития плацентарной недостаточности. Доказано [2], что дисрегуляция aberrantной экспрессии микроРНК связана с такими осложнениями беременности, как преэклампсия, задержка роста плода, гестационный сахарный диабет, привычное невынашивание беременности, преждевременные роды и рождение плода малого размера для гестационного возраста.

Таким образом, микроРНК как эпигенетический фактор является посредником влияния окружающей среды на развитие и функционирование плаценты и одним из ведущих регуляторов исхода беременности. При этом логично предположить, что антенатальная смерть плода на доношенном сроке беременности также может быть непосредственно либо опосредованно связана с дисрегуляцией экспрессии ряда плацентарных микроРНК.

Цель исследования — провести сравнительный анализ уровня экспрессии ряда микроРНК в плацентах пациенток при антенатальной смерти плода и живорождении в исходе своевременных родов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное молекулярно-биологическое исследование 60 образцов плацентарной ткани: группа А включала образцы плаценты от 30 пациенток при антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности, группа В — образцы плацент от 30 пациенток с живорождением на том же сроке гестации.

Критерии включения для группы А: одноплодная спонтанная беременность, срок беременности 37 недель 0 дней — 41 неделя 6 дней, мертворождение по неустановленной причине (внезапная смерть плода).

Критерии включения для группы В: одноплодная спонтанная беременность, срок беременности 37 недель 0 дней — 41 неделя 6 дней, живорождение.

Критерии не включения: индуцированная беременность, многоплодная беременность, тяжелая соматическая патология матери (экстрагенитальные заболевания с декомпенсацией, ВИЧ-инфекция, туберкулез, злокачественные опухоли любой локализации), установленная непосредственная причина смерти плода (для группы А).

Молекулярно-биологические исследования проводены на базе Лаборатории молекулярной генетики ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» СО РАН (г. Новосибирск). Для определения в исследуемых тканевых образцах уровня экспрессии 18 микроРНК (-21, -23а, -26а, -29b, -31, -100, -125b, -126, -128, -150, -191, -204, -221, -223, -451, -1246, -let7а, -U6) последовательно проводили депарафинизацию фрагмента ткани плаценты, экстракцию РНК, реакцию обратной транскрипции и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени (Real-time PCR).

Депарафинизацию плацентарной ткани проводили с использованием минерального масла: в полтора миллилитровую пробирку с двумя парафиновыми срезами толщиной 5 мкм добавляли 1 мл минерального масла и тщательно перемешивали в течение 10 секунд. Затем пробирки в течение 2 минут инкубировали в термощейкере при температуре 65°C и частотой вращения 1300 об/мин, и центрифугировали при 13000-15000 оборотах в течение 4 минут. После удаления надосадочной жидкости в осадок добавляли по 1 мл 96 % этанола и снова перемешивали в течение 10 секунд, затем центрифугировали в тех же условиях, что и предыдущий раз. После чего вновь удаляли надосадочную жидкость, вносили в осадок 1 мл 70 % этанола и центрифугировали при 13000-15000 оборотах в течение 2 минут. Из полученной депарафинизированной ткани плаценты в дальнейшем выделяли нуклеиновые кислоты с использованием набора реагентов «Реал-Бест экстракция 100» (АО «Вектор-Бест»). К образцам добавляли 700 мкл лизирующего раствора, тщательно перемешивали в термощейкере TS-20 (Biosan) при температуре 90°C в течение 60 минут на 1300 об/мин. Затем пробирки помещали в центрифугу (ротатор угловой F-45-12-11 MiniSpin Eppendorf) на 2 минуты при 15000 об/мин. В новые пробирки переносили 600 мкл супернатанта, добавляли еще 600 мкл изопропанола и 10 мкл суспензии магнитных частиц. Затем перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 5 минут. После этого пробирки центрифугировали при 13000 об/мин в течение 10 мин, супернатант сливали, а осадок промывали сначала 500 мкл 70 % этанола, а затем — 300 мкл ацетона. Выделенный осадок высушивали и растворяли в 300 мкл элюирующего раствора. Далее пробирки помещали в термощейкер и инкубировали в течение 5 минут при температуре 65°C с частотой вращения 1300 об/мин. Затем пробирки центрифугировали при 13000-15000 об/мин в течение 1 минуты. Концентрация РНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 2000C (Thermo Scientific). Концентрация

РНК выделенных препаратов находилась в диапазоне 75,6-123,6 нг/мкл.

Для получения комплементарной ДНК проводили реакцию обратной транскрипции в пробирках объемом 30 мкл с помощью готовых реакционных смесей «РеалБест Мастер микс ОТ» (АО «Вектор-Бест»). Смешивали 3 мкл выделенной ранее РНК, 25,5 мкл реакционной смеси для обратной транскрипции, 1,5 мкл 10 мМ раствора соответствующего праймера для обратной транскрипции определенной РНК. Реакционную смесь в объеме 3 мкл использовали в качестве матрицы для проведения Real-time PCR на амплификаторе CFX 96 (Bio-Rad) с целью измерения уровней экспрессии микроРНК.

В пробирки объемом 30 мкл последовательно вносили 3 мкл полученной комплементарной ДНК, 14 мкл H₂O, 3 мкл 10х буфера для ПЦР, 3 мкл 4 мМ раствора дезоксинуклеозидтрифосфатов, 3 мкл 10 % раствора BSA, 1 мкл Taq-полимеразы в комплексе с моноклональными антителами к ее активному центру (Clontech), 3 мкл раствора прямого и обратного праймеров (5 мМ) и зонда (2,5 мМ). Системы праймеров и зондов разработаны компанией АО «Вектор-Бест», эффективность реакции составляет 90-100 %. Анализ полученных данных пороговых циклов ПЦР в реальном времени проводили 2(-ΔCt) методом. Выбор референсного гена осуществляли при помощи алгоритма geNorm, позволяющего выявить наиболее стабильные гены в исследуемой выборке [7]. При этом в качестве референсного гена использовали среднее геометрическое как минимум трех самых стабильных генов.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью пакета статистических программ MedCalc (Version 20.110, Koninkrijk België, 2022) с расчетом медианы (Me) и межквартильного диапазона (Q25; Q75). Для сравнения двух независимых выборок использовали U-критерий Манна-Уитни, применяли критерии χ^2 (хи-квадрат) Пирсона, Фишера. Критерий значимости (p) устанавливали на уровне 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Методами реакции обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (Real-time PCR) определены относительные уровни экспрессии 18 микроРНК (-21, -23а, -26а, -29b, -31, -100, -125b, -126, -128, -150, -191, -204, -221, -223, -451, -1246, -let7а, -U6) в исследуемых образцах плаценты. При этом с помощью сравнительного анализа уровней экспрессии микроРНК в плацентах при антенатальной смерти плода и при живорождении на доношенном сроке беременности удалось идентифицировать те микроРНК, которые, вероятно, участвуют в танатогенезе и могут потенцировать неблагоприятный перинатальный исход. С учётом среднего геометрического пороговых циклов флуоресценции, референсным геном выбрано микроРНК U6. Статистическая значимость различий (p) профилей экспрессии исследуемых микроРНК в образцах плацент между срав-

ниваемыми группами представлена в таблице, а распределение относительных уровней экспрессии этих микроРНК в образцах плацент в зависимости от исхода в сравниваемых группах, представлено на рисунке.

Как видно из таблицы, в случае антенатальной смерти плода (группа А) по сравнению с живорождением на доношенном сроке беременности (группа В) в плацентах зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии следующих микроРНК: -21, -23a, -26a, -29b, -100, -125b, -126, -150, -191, -451, -let7a ($p < 0,001$). При этом уровень экспрессии микроРНК-451 в образцах плаценты группы А оказался в восемь раз ниже по сравнению с образцами ткани группы В. Значимых различий уровней экспрессии остальных микроРНК в тканевых образцах исследуемых групп не обнаружено.

ОБСУЖДЕНИЕ

По мнению Li H. et al. [8], процессы эпигенетической регуляции генов (метилирование ДНК, модификация гистонов, некодирующие РНК) напрямую влияют на формирование и развитие плаценты, включая децидуальный слой, адгезию и инвазию клеток трофобласта, ангиогенез и другие биологические процессы. С учётом более 500 микроРНК, обнаруженных в плацентарной ткани, в настоящее время описаны различные эпигенетические вариан-

ты плаценты, которые считаются ключевыми регуляторами исхода беременности [2]. Следует отметить, что результаты большинства молекулярно-биологических исследований плаценты отличаются небольшим размером выборки и отсутствием стандартизации аналитических подходов, а потому не получают широкого распространения. Однако определение особенностей метилирования ДНК в плаценте позволяет выявить аномальные эпигенетические модификации этого органа, что представляет собой значительный потенциал для улучшения исходов беременности, причём как для матери, так и для плода [8]. Предполагается [9], что микроРНК выборочно компонуется в экзосомы (внеклеточные везикулы), которые распределяют генетическую информацию между клетками матери и плода, регулируя гестационный процесс. Показано [10], что экспрессия плацентарных микроРНК человека контролирует интенсивность работы генов, влияющих на специфику клеточного фенотипа без трансформации основной последовательности ДНК. Так, Ezat S.A. et al. [10] установили, что полиморфизм гена микроРНК-126 и микроРНК-143 коррелирует с идиопатическим привычным невынашиванием беременности.

В недавних исследованиях были идентифицированы определённые микроРНК, оказывающие влияние на пролиферацию, апоптоз, миграцию и инвазию плацентарного трофобласта. В частности, абер-

Таблица

Профиль экспрессии микроРНК в плацентах при антенатальной смерти плода и живорождении на доношенном сроке беременности (нг/мкл), Me (Q1; Q3)

Table

MicroRNA expression profile in placentas during antenatal fetal death and live birth at full-term pregnancy (ng/μl), Me (Q1; Q3)

микроРНК	Группа А (n = 30)	Группа В (n = 30)	Статистическая значимость (p)
-31	0,004 (0,002; 0,007)	0,004 (0,001; 0,036)	0,646
-100	0,071 (0,028; 0,149)	0,145 (0,049; 1,331)	< 0,001
-150	0,016 (0,004; 0,049)	0,024 (0,002; 0,175)	0,020
-204	0,006 (0,000; 0,017)	0,008 (0,000; 0,086)	0,201
-221	0,057 (0,027; 0,112)	0,036 (0,004; 0,416)	0,082
-223	0,126 (0,058; 0,850)	0,125 (0,023; 1,766)	0,446
-1246	1,021 (0,244; 5,709)	1,509 (0,092; 7,899)	0,254
-375	0,001 (0,000; 0,003)	0,000 (0,000; 0,002)	0,161
-128	0,002 (0,001; 0,005)	0,002 (0,000; 0,019)	0,248
-let7a	0,082 (0,042; 0,355)	0,361 (0,165; 0,877)	< 0,001
-126	0,310 (0,156; 0,651)	1,317 (0,622; 3,013)	< 0,001
-451	0,956 (0,221; 4,618)	8,499 (0,902; 24,647)	< 0,001
-23a	1,014 (0,513; 2,143)	3,371 (1,294; 5,718)	< 0,001
-21	1,647 (0,762; 3,678)	3,078 (0,434; 11,408)	0,001
-125b	0,296 (0,126; 0,545)	1,166 (0,356; 2,107)	< 0,001
-26a	0,410 (0,223; 0,757)	1,303 (0,660; 2,823)	< 0,001
-29b	0,226 (0,055; 0,403)	0,943 (0,418; 1,928)	< 0,001
-191	0,074 (0,048; 0,126)	0,390 (0,031; 1,241)	< 0,001

Примечание: применялся критерий хи-квадрат Пирсона или точный критерий Фишера (при ожидаемых частотах менее 5); Me – выборочное среднее; Q1 – наименьшая величина; Q3 – наибольшая величина.

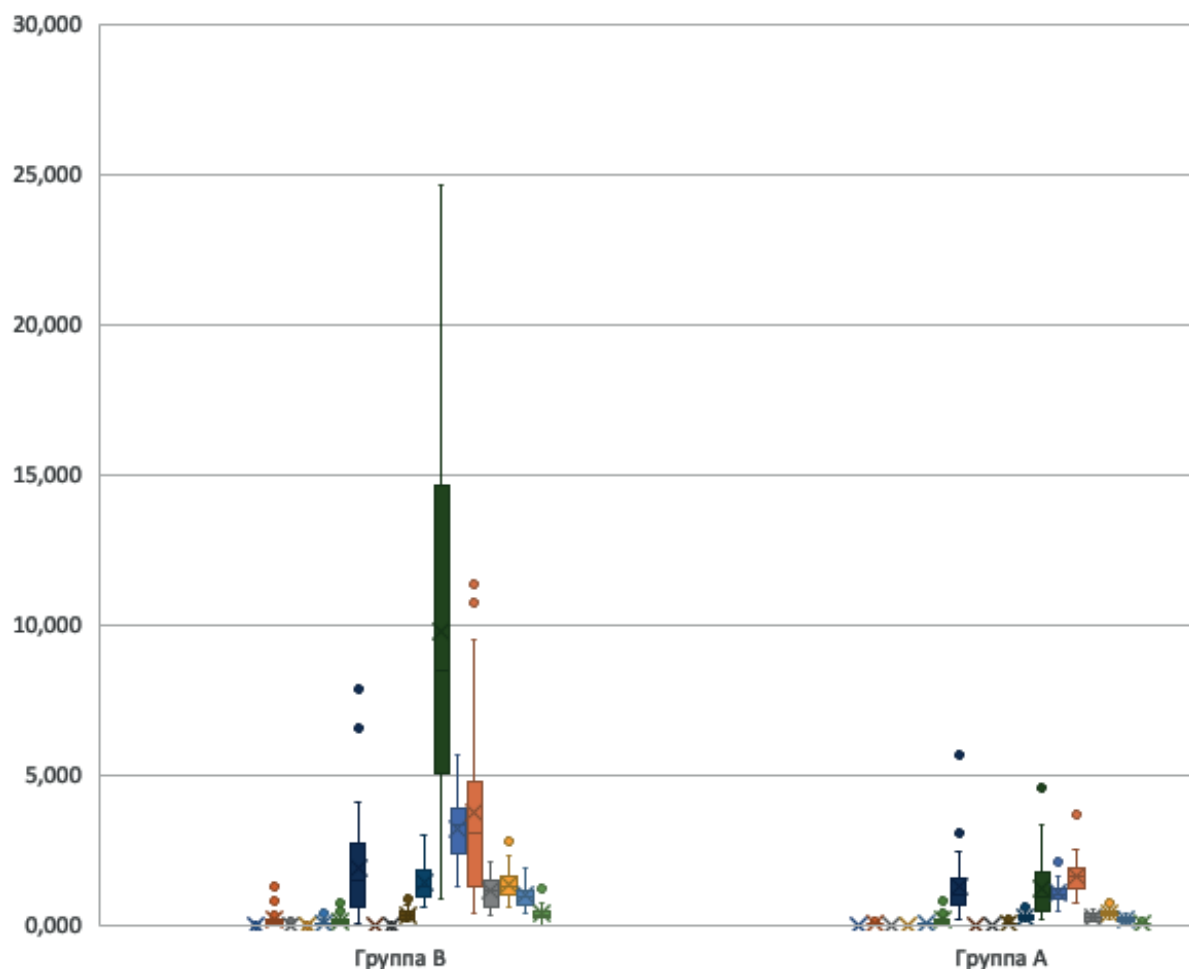
Note: Pearson's chi-square test or Fisher's exact test was used (for expected frequencies less than 5); Me – sample mean; Q1 – smallest value; Q3 – largest value.

Рисунок

Уровни экспрессии исследуемых микроРНК в образцах плацент в зависимости от исходов беременности в сравниваемых группах

Figure

Expression levels of the studied microRNAs in placental samples depending on pregnancy outcomes in the compared groups



рантная экспрессия микроРНК-125b, -20a, -146a в клетках трофобласта приводит к торможению их пролиферации и неадекватной инвазии, что нарушает процессы реконструкции спиральных артерий и ангиогенеза [11]. Так, микроРНК-125b ингибирует миграцию и инвазию межворсинчатого трофобласта путем подавления гена STAT3, который играет ключевую роль в динамике клеточной и сосудистой пролиферации [11]. По мнению Ray A., Ray B.K. [12], плацентарный фактор роста (PIGF) и васкулярный эндотелиальный фактор роста (VEFG) также являются мишенью для микроРНК-125b, при повышенной интенсивности продукции которой уровень их экспрессии снижается. Другими авторами [13, 14] установлено, что высокий уровень экспрессии микроРНК-125b подавляет ангиогенез. МикроРНК-125b, воздействуя на гены SGPL1 и KCNA1, опосредованно влияет на усиление продукции IL-8 в клетках трофобласта и потенцирует на-

рушение процессов плацентации. По нашим данным, снижение уровня экспрессии микроРНК-125b в 3,9 раза в группе А по сравнению с группой В ($p < 0,001$) свидетельствует о том, что патологической плацентации, сосудистой мальформации либо сформированной иммуносупрессии, которые могли бы обусловить антенатальную смерть плода на доношенном сроке беременности, в этой группе не наблюдалось.

Кроме того, доказано, что экспрессия кластеров микроРНК-17~92 и микроРНК-106a~363 (в том числе микроРНК-125b, -150 и -191) ингибирует дифференциацию трофобласта, в то время как микроРНК-378a-5p, -376c, -195, -335, -126 и -125a оказывают положительное влияние на пролиферацию, миграцию, инвазию и дифференцировку плацентарного трофобласта и усиливают антиапоптозные эффекты [15]. Guo H. et al. [16] было установлено, что микроРНК-451 и -150 опосредованно ре-

гулируют метаболизм глюкозы путем отрицательной обратной связи. В настоящем исследовании нами установлено снижение уровня экспрессии микроРНК-150 в 1,5 раза ($p = 0,020$), микроРНК-191 — в 5,2 раз ($p < 0,001$), а микроРНК-451 — в 8,8 раз ($p < 0,001$) в группе А по сравнению с группой В. Это позволяет предположить следующее: на доношенном сроке беременности изменения профилей экспрессии микроРНК-150, -191 и -451 не играют существенной роли в функционировании плаценты и жизнеспособности плода.

В настоящее время считается, что по влиянию на процессы апоптоза все микроРНК делятся на две группы: про-апоптотическую и анти-апоптотическую [17]. Так, гены Bcl2-сигнального про-апоптотического пути (BAK, BIM, PUMA) являются мишенями микроРНК-125b и микроРНК-29a-3p. К анти-апоптотическим микроРНК относят микроРНК-21, -let-7a, -29b, -15a и некоторые другие. МикроРНК-21 подавляет экспрессию гена-мишени FADD, что приводит к повышению клеточной пролиферации и способствует регенерации тканей. В свою очередь, увеличение экспрессии микроРНК-let-7a приводит к блокировке каскада каспаз, которые играют ключевую роль в клеточном апоптозе. При повышенной экспрессии микроРНК-29b ингибируются гены Bcl2 сигнального пути, что также предотвращает апоптоз [17]. Согласно полученным нами данным, в группе А наблюдалось статистически значимое снижение уровня экспрессии микроРНК-126 — в 4,2 раза ($p < 0,001$), микроРНК-29b — в 4 раза ($p < 0,001$), микроРНК-21 — в 1,8 раз ($p = 0,001$) и микроРНК-let-7a — в 4,4 раза ($p < 0,001$) по сравнению с одноимёнными параметрами группы В, что может свидетельствовать о выраженном сдвиге в сторону процессов апоптоза и снижении адаптационных возможностей плаценты за счет aberrантной экспрессии ряда микроРНК анти-апоптотической группы при антенатальной смерти доношенного плода.

Вместе с тем, разные авторы порой представляют довольно противоречивые данные. Так, в одних исследованиях показано, что экспрессия микроРНК-518b, -16, -21 и -146a значимо снижается при задержке роста плода, а по данным других авторов, существенной разницы в уровнях экспрессии этих микроРНК по сравнению с группой контроля не выявляется [18]. В литературе представлены достоверные данные о сниженной экспрессии микроРНК-21, -146a и -16 в плаценте при рождении маловесного плода, при этом следует отметить, что такой же профиль экспрессии данных микроРНК был обнаружен и у новорожденных с малым весом к сроку гестации [19, 20]. Задержка роста плода наблюдается в 8-12 % случаев антенатальной смерти доношенного плода, что не исключает роли микроРНК-21 и микроРНК-146a в танатогенезе. Однако, по нашим данным, подтверждения этому феномену не получено.

Функциональная роль микроРНК-23a во время беременности была отражена в исследовании

Cirkovic A. et al. [20], которое показало отрицательную обратную регуляцию пролиферации клеток трофобласта, процессов клеточной миграции, инвазии, апоптоза, клеточной дифференцировки и ангиогенеза. Согласно нашим данным, в группе А экспрессия микроРНК-23a была ниже в 3,3 раза, чем в группе В ($p < 0,001$), что также может указывать на снижение роли экспрессии данной микроРНК в течении беременности на доношенном сроке.

Что касается микроРНК-26a, считается доказанным, что снижение экспрессии данной микроРНК существенно потенцирует синтез провоспалительного цитокина IL-6 [21].

Роль экспрессии микроРНК-100 во время беременности в настоящее время изучена недостаточно, но имеются данные, показывающие, что эта микроРНК регулирует дифференцировку CD4(+) -клеток, являющихся важным фактором адаптации иммунной системы. Повышенная экспрессия микроРНК-100 подавляет экспрессию гена SMAD2, тем самым стимулируя выработку воспалительных подтипов Т-клеток CD4(+), а именно Th1, Th2 или Th17, снижая уровень иммуносупрессии [22]. В нашем исследовании при антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности (группа А) наблюдалось снижение уровня экспрессии микроРНК-26a в 3,1 раза ($p < 0,001$), а микроРНК-100 — в 2 раза ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями группы В, что может свидетельствовать о напряжённом характере иммунного ответа со стороны матери на чужеродные антигены плода и являться одним из звеньев танатогенеза при антенатальной смерти плода.

Таким образом, пул микроРНК, экспрессируемых в плаценте, может оказывать как положительное, так и негативное влияние на процессы инвазии, миграции, клеточного метаболизма плацентарного трофобласта, ангиогенез, транспортную функцию плаценты, иммунный ответ. Одна микроРНК может осуществлять регуляцию работы множества генов-мишеней, при этом уровень экспрессии самой микроРНК контролируется рядом других микроРНК. Несмотря на уже имеющиеся данные, характеризующие цепочку регуляции и функциональную значимость некоторых микроРНК, необходимо дальнейшее глубокое и подробное изучение микроРНК как регуляторов характера, направленности и интенсивности клеточных процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами показано изменение профилей и уровня экспрессии микроРНК-126, -29b, -21, -26a, -100 и let-7a при антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности. Аберрантные уровни экспрессии данных микроРНК способствуют нарушению процессов апоптоза и иммунного ответа в плацентарной ткани, тем самым становясь непосредственными компонентами звеньев танатогенеза доношенного плода.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Paloviita P, Vuoristo S. The non-coding genome in early human development- Recent advancements. *Semin Cell Dev Biol.* 2022; 131: 4-13. doi: 10.1016/j.semcdb.2022.02.010
2. Gonzalez TL, Eisman LE, Joshi NV, Flowers AE, Wu D, Wang Y, et al. High-throughput miRNA sequencing of the human placenta: expression throughout gestation. *Epigenomics.* 2021; 13: 995-1012. doi: 10.1101/2021.02.04.429392
3. Gillet V, Ouellet A, Stepanov Y, Rodosthenous RS, Croft EK, Brennan K, et al. MiRNA profiles in extracellular vesicles from serum early in pregnancies. Complicated by gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol & Metab.* 2019; 104(11): 5157-5169. doi: 10.1210/jc.2018-02693
4. Ali A, Hadlich F, Abbas MW, Iqbal MA, Tesfaye D, Bouma GJ, et al. MicroRNA- mRNA networks in pregnancy complications: a comprehensive downstream analysis of potential biomarkers. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(5): 2313. doi: 10.3390/ijms22052313
5. Chen PS, Chiu WT, Hsu PL, Lin SC, Peng IC, Wang CY, Tsai SJ. Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases. *J Biomed Sci.* 2020; 27(1): 63. doi: 10.1186/s12929-020-00658-7
6. Meruvu S, Zhang J, Choudhury M. Mono-(2-ethylhexyl) phthalate increases oxidative stress responsive miRNAs in first trimester placental cell line HTR8/SVneo. *Chem Res Toxicol.* 2016; 29: 430-435. doi: 10.1021/acs.chemrestox.6b00038
7. Kazachkov EL, Semyonov YuA, Veryaskina YuA, Kazachkova EA, Chizhovskaya AV. The expression profile of a number of miRNAs in the placenta in timely and premature birth. *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2022;6(1):22-37. Russian (Казачков Е.Л., Семёнов Ю.А., Веряскина Ю.А., Казачкова Э.А., Чижовская А.В. Профиль экспрессии ряда микроРНК в плаценте при своевременных и преждевременных родах //Journal of Siberian Medical Sciences. 2022; 6(1): 22-37.) doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-22-37
8. Li H, Ouyang Y, Sadovsky E, Parks WT, Chu T, Sadovsky Y. Unique microRNA signals in plasma exosomes from pregnancies. Complicated by preeclampsia. *Hypertension.* 2020; 75: 762-771. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.14081
9. Yao Q, Chen Y, Zhou X. The roles of microRNAs in epigenetic regulation. *Curr Opin Chem Biol.* 2019; 51: 11-17. doi: 10.1016/j.cbpa.2019.01.024
10. Ezat SA, Haji AI. Study of association between different microRNA variants and the risk of idiopathic recurrent pregnancy loss. *Arch Gynecol Obstet.* 2022; 306: 1281-1286. doi: 10.1007/s00404-022-06663-5
11. Peng P, Song H, Xie C, Zheng W, Ma H, Xin D, et al. MiR-146a-5p-mediated suppression on trophoblast cell progression and epithelial-mesenchymal transition in preeclampsia. *Biol Res.* 2021; 54: 30. doi: 10.1186/s40659-021-00351-5
12. Ray A, Ray BK. Suppression of vascular endothelial growth factor expression in breast cancer cells by microRNA-125b-mediated attenuation of serum amyloid A activating factor-1 level. *Oncoscience.* 2019; 6(5-6): 337-348. doi: 10.18632/oncoscience.483
13. Li Q, Han Y, Xu P, Yin L, Si Y, Zhang C, et al. Elevated microRNA-125b inhibits cytotrophoblast invasion and impairs endothelial cell function in preeclampsia. *Cell Death Discov.* 2020; 13(6): 35. doi: 10.1038/s41420-020-0269-0
14. Kumar P, Luo Y, Tudela C, Alexander JM, Mendelson CR. The c-Myc-regulated microRNA-17~92 (miR-17~92) and miR-106a~363 clusters target hCYP19A1 and hGCM1 to inhibit human trophoblast differentiation. *Mol Cell Biol.* 2013; 33: 1782-1796. doi: 10.1128/MCB.01228-12
15. Gu Y, Meng J, Zuo C, Wang S, Li H, Zhao S, et al. Downregulation of microRNA-125a in placenta accreta spectrum disorders contributes antiapoptosis of implantation site intermediate trophoblasts by targeting MCL1. *Reprod Sci.* 2019; 26: 1582-1589. doi: 10.1177/1933719119828040
16. Guo H, Nan Y, Zhen Y, Zhang Y, Guo L, Yu K, et al. MiRNA-451 inhibits glioma cell proliferation and invasion by downregulating glucose transporter 1. *Tumour Biol.* 2016; 37(10): 13751-13761. doi: 10.1007/s13277-016-5219-3
17. Naidoo P, Naidoo RN, Ramkaran P, Mutttoo S, Asharam K, Chuturgoon AA. Maternal miRNA-146a G/C rs2910164 variation, HIV/AIDS and nitrogen oxide pollution exposure collectively affects foetal growth. *Hum Exp Toxicol.* 2019; 38: 82-94. doi: 10.1177/0960327118781902
18. Maccani MA, Padbury JF, Marsit CJ. MiR-16 and miR-21 expression in the placenta is associated with fetal growth. *PLOS One.* 2011; 6: e21210. doi: 10.1371/journal.pone.0021210
19. Jeong HR, Han JA, Kim H, Lee HJ, Shim YS, Kang MJ, et al. Exosomal miRNA profile in small-for-gestational-age children: a potential biomarker for catch-up growth. *Genes.* 2022; 13: 938. doi: 10.3390/genes13060938
20. Cirkovic A, Stanisavljevic D, Milin-Lazovic J, Rajovic N, Pavlovic V, Milicevic O, et al. Preeclamptic women have disrupted placental microRNA expression at the time of preeclampsia diagnosis: meta-analysis. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021; 9: 782845. doi: 10.3389/fbioe.2021.782845
21. Cheng Q, Tang L, Wang Y. Regulatory role of miRNA-26a in neonatal sepsis. *Exp Ther Med.* 2018; 16(6): 4836-4842. doi: 10.3892/etm.2018.6779
22. Negi V, Paul D, Das S, Bajpai P, Singh S, Mukhopadhyay A, et al. Altered expression and editing of miRNA-100 regulates iTreg differentiation. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43(16): 8057-8065. doi: 10.1093/nar/gkv752

КОРРЕСПОНДЕНЦИЮ АДРЕСОВАТЬ:

ЧИЖОВСКАЯ Анна Валерьевна

454092, г. Челябинск, ул. Воровского, д. 64, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России

Тел: 8 (3512) 32-73-71 E-mail: ms.chizhovskaya@mail.ru

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ**INFORMATION ABOUT AUTHORS**

КАЗАЧКОВ Евгений Леонидович, доктор мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, г. Челябинск, Россия. E-mail: doctorkel@yandex.ru	KAZACHKOV Evgeniy Leonidovich, doctor of medical sciences, professor, head of the department of pathological anatomy and forensic medicine named after prof. V.L. Kovalenko, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. E-mail: doctorkel@yandex.ru
КАЗАЧКОВА Элла Алексеевна, доктор мед. наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, г. Челябинск, Россия. E-mail: kazachkovaea@yandex.ru	KAZACHKOVA Ella Alekseevna, doctor of medical sciences, professor, professor of the department of obstetrics and gynecology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. E-mail: kazachkovaea@yandex.ru
ЧИЖОВСКАЯ Анна Валерьевна, аспирант кафедры патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, г. Челябинск, Россия. E-mail: ms.chizhovskaya@mail.ru	CHIZHOVSKAYA Anna Valerievna, graduate student of the department of pathological anatomy and forensic medicine named after prof. V.L. Kovalenko, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. E-mail: ms.chizhovskaya@mail.ru
ВЕРЯСКИНА Юлия Андреевна, канд. биол. наук, науч. сотрудник лаборатории молекулярной генетики, ФГБУН ИМКБ СО РАН, г. Новосибирск, Россия. E-mail: microrna@inbox.ru	VERYASKINA Yulia Andreevna, candidate of biological sciences, researcher at the laboratory of molecular genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: microrna@inbox.ru
СЕМЕНОВ Юрий Алексеевич, доктор мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, г. Челябинск, Россия. E-mail: u-sirius@mail.ru	SEменов Yuri Alekseevich, doctor of medical sciences, docent of the department of obstetrics and gynecology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. E-mail: u-sirius@mail.ru
ЖАРОВА Наталья Валентиновна, канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека ИКМ им. Н.В. Склифосовского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, г. Москва, Россия. E-mail: zharova_n@staff.sechenov.ru	ZHAROVA Natalya Valentinovna, candidate of medical sciences, docent of the department of human anatomy and histology, Institute of Clinical Medicine named after N.V. Sklifosovsky, First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow, Russia. E-mail: zharova_n@staff.sechenov.ru
СЕМЕНОВ Алексей Юрьевич, студент ИКМ им. Н.В. Склифосовского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, г. Москва, Россия. E-mail: semenov.aleksey@bk.ru	SEменов Alexey Yurievich, student of the Institute of Clinical Medicine named after N.V. Sklifosovsky, First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow, Russia. E-mail: semenov.aleksey@bk.ru