

Профиль экспрессии ряда микроРНК в плаценте при своевременных и преждевременных родах

Е.Л. Казачков¹, Ю.А. Семёнов¹, Ю.А. Веряскина², Э.А. Казачкова¹, А.В. Чижовская¹

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия

²ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Сравнительный анализ уровней экспрессии ряда микроРНК (миРНК) в плацентах, полученных при своевременных и спонтанных преждевременных родах (ПР), позволит выявить те миРНК, которые участвуют в генезе спонтанных ПР. МиРНК, характеризующиеся aberrантной экспрессией в тканях плаценты, могут являться перспективными биомаркерами в крови беременных для оценки риска спонтанных ПР.

Цель. Сравнительный анализ уровней экспрессии ряда микроРНК в ткани плаценты у женщин при своевременных и преждевременных родах.

Материалы и методы. Проведен анализ уровня экспрессии ряда миРНК в ткани плаценты от 30 пациенток с ПР и перинатальными потерями (1-я группа), от 30 пациенток с ПР без перинатальных потерь (2-я группа), от 30 родильниц со своевременными родами (3-я группа). Изучали уровень экспрессии следующих миРНК: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191 и U6. Для этого поэтапно проводили депарафинизацию материала с использованием минерального масла, экстракцию РНК, реакцию обратной транскрипции и полимеразную цепную реакцию в реальном времени.

Результаты. Установлено, что при ПР в образцах плацент отмечается статистически значимое увеличение уровней экспрессии миРНК-125b, миРНК-29b и снижение уровня экспрессии миРНК-451 по сравнению с плацентами при своевременных родах. При наличии ПР с перинатальными потерями зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии миРНК-150 в плаценте, а при отсутствии перинатальных потерь – увеличение уровня экспрессии миРНК-223 и миРНК-31 по сравнению с плацентами при своевременных родах. Кроме того, при ПР с перинатальными потерями по сравнению с ПР без перинатальных потерь отмечается статистически значимо более низкий уровень экспрессии миРНК-221 и миРНК-223.

Заключение. Aberrантные значения уровней экспрессии миРНК-125b, миРНК-29b и миРНК-451 в плацентах пациенток с ПР свидетельствуют об их участии в патогенезе последних, по-видимому, за счет нарушения регуляции процессов ангиогенеза, апоптоза, инвазии трофобласта и метаболизма глюкозы.

Ключевые слова: экспрессия микроРНК, плацента, своевременные и преждевременные роды.

Образец цитирования: 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

The expression profile of a number of miRNAs in the placenta in timely and premature birth

E.L. Kazachkov¹, Yu.A. Semenov¹, Yu.A. Veryaskina², E.A. Kazachkova¹, A.V. Chizhovskaya¹

¹South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

²Institute of Molecular and Cellular Biology, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. Comparative analysis of the expression levels of a number of microRNAs (miRNAs) in placentas obtained during timely and spontaneous preterm birth (PB) will make it possible to identify those miRNAs that are involved

Поступила в редакцию 27.10.2021
Прошла рецензирование 10.11.2021
Принята к публикации 30.11.2021

Автор, ответственный за переписку
Казачков Евгений Леонидович: ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
E-mail: doctorkel@yandex.ru

Received 27.10.2021
Revised 10.11.2021
Accepted 30.11.2021

Corresponding author
Evgeny L. Kazachkov: South Ural State Medical University, 64, Vorovsky str., Chelyabinsk, 454092, Russia.
E-mail: doctorkel@yandex.ru

in the genesis of spontaneous PB. MiRNAs characterized by aberrant expression in placental tissues may be promising biomarkers in the blood of pregnant women for assessing the risk of spontaneous PB.

Aim. Comparative analysis of expression levels of a number of microRNAs in placental tissue in women in timely and premature birth.

Materials and Methods. We performed an analysis of the expression level of a number of miRNAs in placental tissue from 30 patients with PB and perinatal losses (group 1), from 30 patients with PB without perinatal losses (group 2), from 30 maternity women with timely delivery (group 3). The expression levels of the following miRNAs were studied: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191, and U6. For this, the material was deparaffinated step by step using mineral oil, then the RNA extraction, reverse transcription reaction, and real-time polymerase chain reaction were carried out.

Results. It was found that in PB a statistically significant increase in the expression levels of miRNA-125b, miRNA-29b is observed in placental samples, and a decrease in the expression level of miRNA-451 in comparison with timely delivery placentas. In the PB with perinatal losses, a statistically significant decrease in the expression level of miRNA-150 was registered, and in the absence of perinatal losses, an increase in the expression level of miRNA-223 and miRNA-31 compared with placentas in timely delivery was revealed. In addition, in PB with perinatal losses compared to PB without perinatal losses, a statistically significantly lower level of expression of miRNA-221 and miRNA-223 is noted.

Conclusion. Aberrant expression levels of miRNA-125b, miRNA-29b, and miRNA-451 in the placentas of patients with PB indicate their involvement in the pathogenesis of the latter, apparently due to dysregulation of angiogenesis, apoptosis, trophoblast invasion and glucose metabolism.

Keywords: miRNA expression, placenta, timely and premature birth.

Citation example: Kazachkov E.L., Semenov Yu.A., Veryaskina Yu.A., Kazachkova E.A., Chizhovskaya A.V. 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. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-22-37

ВВЕДЕНИЕ

Плацента является провизорным органом, обеспечивающим взаимосвязь между организмами матери и плода и играющим первостепенную роль в нормальном развитии последнего. Повреждения плаценты могут явиться причиной различных осложнений беременности как со стороны плода, так и матери [1, 2].

Формирование плаценты сопровождается такими процессами, как апоптоз, пролиферация, дифференцировка, инвазия, ангиогенез. Молекулярно-генетические aberrации и эпигенетические воздействия могут вносить коррективы в физиологическое формирование плаценты и способствовать развитию патологии беременности [3, 4].

В последние годы все более возрастает интерес к исследованию микроРНК (миРНК). В базе данных MirGeneGB 2.0 в 2020 г. аннотирован список из 556 подтвержденных миРНК у человека [5]. МиРНК – небольшие некодирующие РНК, они осуществляют посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов, как правило, негативную, и тем самым координируют биологические процессы в организме, в том числе при беременности [6–8].

МиРНК играют критическую роль в формировании и функционировании плаценты, регулируя экспрессию генов, участвующих в пролифе-

INTRODUCTION

The placenta is a provisional organ that provides the relationship between the organisms of the mother and the fetus, and plays a primary role in the normal development of the latter. Placental lesions can cause various pregnancy complications, both on the part of the fetus and the mother [1, 2].

The formation of the placenta is accompanied by such processes as apoptosis, proliferation, differentiation, invasion, angiogenesis. Molecular genetic aberrations and epigenetic effects can influence the physiological formation of the placenta and contribute to the development of pregnancy pathology [3, 4].

In recent years, there has been an increasing interest in the study of microRNAs (miRNAs). In the MirGeneGB 2.0 database in 2020, a list of 556 confirmed miRNAs in humans was annotated [5]. MiRNAs are small noncoding RNAs; they carry out posttranscriptional regulation of gene expression, usually negative, and thus coordinate biological processes in the body, including during pregnancy [6–8].

MiRNAs play a critical role in the formation and functioning of the placenta by regulating the expression of genes involved in the proliferation, differentiation, and invasion of trophoblast cells [5]. Gu et al. [9] determined miRNA expression profiles in the placenta of the first and third trimesters, which made it possible to identify 191 mature miRNAs spe-

рации, дифференцировке и инвазии клеток трофобласта [5]. Y. Gu et al. [9] определили профили экспрессии миРНК в плаценте первого и третьего триместра, что позволило выявить 191 зрелую миРНК, специфичную для плацентарной ткани. В исследовании А. Ali et al. [8] показано, что миРНК из плаценты могут экспортироваться в кровоток как плода, так и матери и служить биомаркером для раннего выявления осложнений беременности. Имеются работы, свидетельствующие о роли ряда миРНК в генезе преэклампсии, задержки роста плода, гестационного сахарного диабета [10–13]. Логично было бы предположить, что сравнительный анализ уровней экспрессии ряда миРНК в плацентах, полученных при своевременных и спонтанных преждевременных родах (ПР), позволит выявить те миРНК, которые участвуют в генезе спонтанных ПР. Кроме того, с практической точки зрения миРНК, характеризующиеся aberrантной экспрессией в тканях плаценты, могут являться перспективными биомаркерами в крови беременных для оценки риска спонтанных ПР.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительный анализ уровней экспрессии ряда микроРНК в ткани плаценты у женщин со своевременными и преждевременными родами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для сравнительного анализа уровня экспрессии ряда миРНК ткани плаценты при своевременных и преждевременных родах исследовано 90 образцов плацентарной ткани: 1-ю группу составили образцы плацентарной ткани пациенток, беременность которых закончилась спонтанными ПР с перинатальными потерями ($n = 30$); 2-ю группу – образцы плацентарной ткани пациенток с ПР без перинатальных потерь ($n = 30$); 3-ю группу – образцы плацентарной ткани родильниц со своевременными родами ($n = 30$).

Критерии включения в 1-ю и 2-ю группу: спонтанные ранние ПР, ПР, поздние ПР, наблюдение в женской консультации, наличие медицинской документации.

Критерии включения в 3-ю группу: спонтанные своевременные роды живым плодом, наблюдение в женской консультации, наличие медицинской документации.

Критерии исключения: очень ранние ПР (22–27 нед 6 дней), индуцированные ПР, многоплодная беременность, беременность после экстракорпорального оплодотворения, антенатальная гибель плода, наличие врожденных пороков раз-

cific for placental tissue. Ali et al. [8] showed in their study that miRNAs from the placenta can be exported into the bloodstream of both the fetus and the mother and serve as a biomarker for early detection of pregnancy complications. There are research works that testify to the role of a number of miRNAs in the genesis of preeclampsia, fetal growth retardation, and gestational diabetes mellitus [10–13]. It would be logical to assume that a comparative analysis of the expression levels of a number of miRNAs in placentas obtained during timely and spontaneous preterm birth (PB) would make it possible to identify those miRNAs that are involved in the genesis of spontaneous PB. In addition, from a practical point of view, miRNAs characterized by aberrant expression in placental tissues may be promising biomarkers in the blood of pregnant women for assessing the risk of spontaneous PB.

AIM OF THE RESEARCH

Comparative analysis of expression levels of a number of miRNAs in placental tissue in women with timely and premature birth.

MATERIALS AND METHODS

For a comparative analysis of the level of expression of a number of miRNAs in placental tissue during timely and preterm birth, 90 placental tissue samples were studied: group 1 consisted of placental tissue samples of patients whose pregnancy ended in spontaneous PB with perinatal losses ($n = 30$); group 2 consisted of placental tissue samples of patients with PB without perinatal losses ($n = 30$); group 3 consisted of placental tissue samples of maternity women with timely delivery ($n = 30$).

Criteria for including in the 1st and 2nd groups: spontaneous early PB, PB, late PB, observation in the antenatal clinic, availability of medical documentation.

Criteria for including in the 3rd group: spontaneous timely delivery of a live fetus, observation in the antenatal clinic, availability of medical documentation.

Exclusion criteria: very early PB (22–27 weeks 6 days), induced PB, multiple pregnancy, pregnancy after *in vitro* fertilization, antenatal fetal death, the presence of congenital malformations of the fetus, severe preeclampsia, premature detachment of a normally implanted placenta, placenta previa, uterine malformations, severe extragenital diseases with decompensation, HIV infection, tuberculosis, malignant tumors of any localization.

After macroscopic examination of the afterbirth, a strip of tissue $3 \times 0.5 \times 0.5$ cm was excised from the

вития плода, тяжелая преэклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, предлежание плаценты, пороки развития матки, тяжелые экстрагенитальные заболевания с декомпенсацией, ВИЧ-инфекция, туберкулез, злокачественные опухоли любой локализации.

После макроскопического изучения последа из центральной зоны плацентарного диска иссекали полоску ткани $3 \times 0.5 \times 0.5$ см, которую прикрепили к плотной бумаге наружной (материнской) поверхностью и фиксировали в 10% нейтральном формалине. Затем из плаценты вырезали 3–4 кусочка ткани размерами $2 \times 2 \times 3$ см. Фрагменты проводили по традиционной схеме [14] и изготавливали срезы толщиной 5 мкм.

Исследование уровня экспрессии миРНК в ткани плаценты выполняли в лаборатории молекулярной генетики Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН (Новосибирск). Изучали уровень экспрессии следующих миРНК: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191 и U6. Для этого поэтапно проводили депарафинизацию материала с использованием минерального масла, экстракцию РНК, реакцию обратной транскрипции и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени.

Для депарафинизации с использованием минерального масла в пробирку объемом 1.5 мл, содержащую 2 парафиновых среза ткани плаценты толщиной 5 мкм, добавляли 1 мл минерального масла и тщательно перемешивали на вортексе в течение 10 с. Далее пробирки помещали в термошейкер при температуре 65 °С и инкубировали в течение 2 мин с частотой вращения 1300 об./мин. Затем центрифугировали при 13 000–15 000 g в течение 4 мин. После этого удаляли надосадочную жидкость, не захватывая осадок. В осадок вносили 1 мл 96% этанола и перемешивали на вортексе в течение 10 с с последующим центрифугированием при 13 000–15 000 g в течение 4 мин. Далее удаляли надосадочную жидкость, не захватывая осадок, с последующим внесением 1 мл 70% этанола. Затем проводили центрифугирование при 13 000–15 000 g в течение 2 мин. Полученный осадок использовали в качестве дальнейшего материала для выделения нуклеиновых кислот.

Выделение нуклеиновых кислот из образцов проводили с использованием набора реагентов «РеалБест экстракция 100» (АО «Вектор-Бест», Россия). К образцам ткани плаценты, полученным после депарафинизации, добавляли 700 мкл

central zone of the placental disc, which was attached to thick paper with the outer (maternal) surface and fixed in 10% neutral formalin. Then, 3–4 pieces of tissue $2 \times 2 \times 3$ cm in size were excised from the placenta. The fragments were processed according to the traditional scheme [14] and sections were made with a thickness of 5 μ m.

The study of miRNA expression level in the placental tissue was performed at the Laboratory of Molecular Genetics of the Institute of Molecular and Cellular Biology (Novosibirsk). The expression levels of the following miRNAs were determined: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191, and U6. For this, we carried out the step by step deparaffinization of the material using mineral oil, then the RNA extraction; reverse transcription reaction, and real-time polymerase chain reaction (PCR).

For deparaffinization, 1 ml of mineral oil was added to a 1.5 ml tube containing 2 paraffin sections of the placental tissue 5 μ m thick, and thoroughly mixed on a vortex for 10 s. Next, the tubes were placed in a thermoshaker at a temperature of 65°C and incubated for 2 min at a rotational speed of 1300 rpm. Then they were centrifuged at 13 000–15 000 g for 4 min. After that, the supernatant was removed without capturing the precipitate. 1 ml of 96% ethanol was added to the precipitate and vortexed for 10 s followed by centrifugation at 13 000–15 000 g for 4 min. Next, the supernatant was removed without capturing the precipitate, followed by the addition of 1 ml of 70% ethanol. Then, centrifugation was performed at 13 000–15 000 g for 2 min. The resulting precipitate was used as a further material for the isolation of nucleic acids.

Isolation of nucleic acids from the samples was performed using the RealBest Extraction 100 reagent kit (Vector-Best, Russia). 700 μ l of lysing solution were added to the placental tissue samples obtained after deparaffinization. The tissue in the solution was intensively mixed in a TS-20 Thermo-Shaker (Biosan, Latvia) for 60 min at 90°C at a rotational speed of 1300 rpm. Next, the solution was centrifuged for 2 min at 15 000 rpm (Eppendorf MiniSpin with F-45-12-11 angular rotor, Germany) and 600 μ l of the supernatant was transferred into new tubes, adding an equal volume of isopropanol and 10 μ l of magnetic particle suspension to it. Then mixed and left for 5 min at room temperature. At the next stage of isolation, centrifugation was performed for 10 min at 13 000 rpm, the supernatant was discarded, and the precipitate was washed with 500 μ l of 70% ethanol, then with 300 μ l of acetone. The resulting precipitate was dried and dissolved in 300 μ l of the elu-

лизирующего раствора. Ткань в растворе интенсивно перемешивали в термошейкере TS-20 (Biosan, Латвия) в течение 60 мин при температуре 90 °С с частотой вращения 1300 об./мин. Далее раствор центрифугировали в течение 2 мин при 15 000 об./мин (ротатор угловой F-45-12-11 MiniSpin Eppendorf, Germany) и переносили 600 мкл супернатанта в новые пробирки, добавляя к нему равный объем изопропанола и 10 мкл суспензии магнитных частиц. Затем перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 5 мин. На следующем этапе выделения проводили центрифугирование в течение 10 мин при 13 000 об./мин, супернатант сливали, а осадок промывали с помощью 500 мкл 70% этанола, затем 300 мкл ацетона. Полученный осадок высушивали и растворяли в 300 мкл элюирующего раствора. Далее пробирки помещали в термошейкер при температуре 65 °С и инкубировали в течение 5 мин с частотой вращения 1300 об./мин. Затем центрифугировали при 13 000–15 000 g в течение 1 мин. Концентрацию тотальной РНК измеряли на спектрофотометре NanoDrop 2000C (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). Концентрация РНК выделенных препаратов находилась в диапазоне 75.6–123.6 нг/мкл.

Реакцию обратной транскрипции для получения комплементарной ДНК (кДНК) проводили в объеме 30 мкл. Использовали готовые реакционные смеси «РеалБест Мастер микс ОТ» (АО «Вектор-Бест», Россия). Для реакции обратной транскрипции использовали: 3 мкл выделенной РНК, 25.5 мкл реакционной смеси для обратной транскрипции, 1.5 мкл 10 мкМ раствора соответствующего праймера для обратной транскрипции. Все олигонуклеотиды были синтезированы в АО «Вектор-Бест», Россия. Полученную реакционную смесь, содержащую кДНК в объеме 3 мкл, сразу использовали в качестве матрицы для проведения ПЦР в реальном времени на приборе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, USA).

Измерение уровней экспрессии миРНК проводили методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, USA). Реакцию проводили в объеме 30 мкл: 3 мкл полученной кДНК, 14 мкл H₂O, 3 мкл 10х буфера для ПЦР (АО «Вектор-Бест», Россия), 3 мкл 4 мМ раствора дезоксинуклеозидтрифосфатов, 3 мкл 10% раствора BSA, 1 мкл Taq-полимеразы (АО «Вектор-Бест», Россия) в комплексе с моноклональными антителами к ее активному центру (Clontech, США), 3 мкл раствора прямого и обратного праймеров (5 мкМ) и зонда (2.5 мкМ). Системы праймеров и зондов разработаны ком-

ting solution. Next, the tubes were placed in the thermo-shaker at a temperature of 65°C and incubated for 5 min at a rotational speed of 1300 rpm. Then centrifuged at 13 000–15 000 g for 1 min. The concentration of total RNA was measured on a NanoDrop 2000C Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). The RNA concentration of the isolated samples was in the range of 75.6–123.6 ng/μl.

The reverse transcription reaction to obtain complementary DNA (cDNA) was carried out in a volume of 30 μl. RealBest Master Mix OT reaction mixtures (Vector-Best, Russia) were used. For the reverse transcription reaction, the following was used: 3 μl of isolated RNA, 25.5 μl of the reaction mixture for reverse transcription, 1.5 μl of a 10 μM solution of the corresponding primer for reverse transcription. All oligonucleotides were synthesized at Vector-Best, Russia. The resulting reaction mixture containing cDNA in a volume of 3 μl was immediately used as a template for real-time PCR on a CFX96 device (Bio-Rad Laboratories, USA).

The levels of miRNA expression were measured by real-time PCR on a CFX96 amplifier (Bio-Rad Laboratories, USA). The reaction was carried out in a volume of 30 μl: 3 μl of the resulting cDNA, 14 μl of H₂O, 3 μl of 10× PCR buffer (Vector-Best, Russia), 3 μl of 4 mM deoxynucleoside triphosphate solution, 3 μl of 10% BSA solution, 1 μl of Taq-polymerase (Vector-Best, Russia) in complex with monoclonal antibodies to its active center (Clontech, USA), 3 μl of a solution of forward and reverse primers (5 μM) and a probe (2.5 μM). Primer and probe systems were developed by Vector-Best, the reaction efficiency is 90–100%. Analysis of the obtained data on real-time PCR threshold cycles was performed using the 2^{-ΔΔC_T} method [15].

The obtained data were statistically processed using the STATISTICA 12.0 software (StatSoft Inc., USA) with the calculation of the median (Me) and interquartile range (Q25; Q75). Comparison between groups was performed using the Mann-Whitney test. Statistical hypotheses were tested at a critical significance level of 0.05.

RESULTS

The accuracy of determining the variability of miRNAs is undoubtedly an important aspect in studying their role in biological processes. Normalization of expression levels provides an accurate quantification of PCR data and is necessary to exclude the influence of non-specific changes. One of the main difficulties in interpreting the obtained PCR data is the choice of a reference gene (RG). The RG

панией АО «Вектор-Бест», эффективность реакции составляет 90–100 %. Анализ полученных данных пороговых циклов ПЦР в реальном времени проводили методом $2^{-\Delta\Delta C_T}$ [15].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 12.0 (StatSoft Inc., USA) с расчетом медианы (Me) и межквартильного диапазона (Q25; Q75). Сравнение между группами проводили с использованием критерия Манна – Уитни. Проверку статистических гипотез проводили при критическом уровне значимости 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Точность определения вариабельности миРНК, несомненно, является важным аспектом при изучении их роли в биологических процессах. Нормировка уровней экспрессии обеспечивает точную количественную оценку данных ПЦР и необходима для исключения влияния неспецифических изменений. Одной из основных трудностей в интерпретации полученных данных ПЦР является выбор референсного гена (РГ). РГ должен обладать такими качествами, как минимальная вариабельность экспрессии между сравниваемыми подгруппами, стабильность при различных методах выделения и хранения РНК.

Для выбора РГ мы использовали алгоритм geNorm, позволяющий выявить наиболее стабильные гены в исследуемой выборке [15]. В качестве РГ рекомендуется использовать среднее геометрическое как минимум трех самых стабильных генов.

Методом ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени в 90 образцах плаценты измерены относительные уровни экспрессии следующих миРНК: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191 и U6. Наиболее оптимальным РГ в данном исследовании явилось среднее геометрическое из пороговых циклов флуоресценции трех миРНК: 92a, 20a и U6.

Распределение относительных уровней экспрессии изучаемых миРНК в образцах плацент в трех сравниваемых группах, включая медианное значение и межквартильный диапазон, представлено на рис. 1. Значимость различий (p) относительных уровней экспрессии изучаемых миРНК в образцах плацент между сравниваемыми группами продемонстрирована в табл. 1.

Наше исследование показало (см. рис. 1, табл. 1), что при ПР в образцах плацент отмечается статистически значимое увеличение уровней экспрессии миРНК-125b и миРНК-29b, а также статистически значимое снижение уровня

should have such qualities as minimal expression variability between the compared subgroups, stability in various methods of RNA isolation and storage.

To select the RG, we used the geNorm algorithm, which makes it possible to identify the most stable genes in the study sample [15]. As a RG, it is recommended to use the geometric mean of at least the three most stable genes.

Relative expression levels of the following miRNAs were measured in 90 placental samples by real-time reverse transcription PCR: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191, and U6. The most optimal RG in this study was the geometric mean of the threshold fluorescence cycles of three miRNAs: 92a, 20a, and U6.

The distribution of relative expression levels of the studied miRNAs in placental samples in the three compared groups, including the median value and interquartile range, is shown in Fig. 1. The significance of differences (p) in the relative levels of expression of the studied miRNAs in placental samples between the compared groups is shown in Table 1.

Our study revealed (see Fig. 1, Table 1) that placental samples showed a statistically significant increase in the expression levels of miRNA-125b and miRNA-29b, as well as a statistically significant decrease in the expression level of miRNA-451 compared with patients with timely delivery. At the same time, in PB with perinatal losses, a statistically significant decrease in miRNA-150 expression in the placenta was registered, and in the absence of perinatal losses, a statistically significant increase in miRNA-223 and miRNA-31 expression levels compared with placentas in timely delivery was noted. In addition, in PB with perinatal losses, compared with PB without perinatal losses, there is a statistically significantly lower level of expression of miRNA-221 and miRNA-223 in placentas.

DISCUSSION

The correct formation of the placenta is crucial for the normal course of pregnancy and fetal development. A small number of studies have been devoted to studying the expression profile of miRNAs involved in the regulation of molecular biological processes in the placenta [16–18]. At the same time, it is known that aberrant miRNA expression can contribute to disorders of proliferation, apoptosis, angiogenesis, and other biological processes [19–21].

Angiogenesis and vasculogenesis are controlled by numerous growth factors and cytokines, including vascular endothelial growth factor (VEGF), placenta

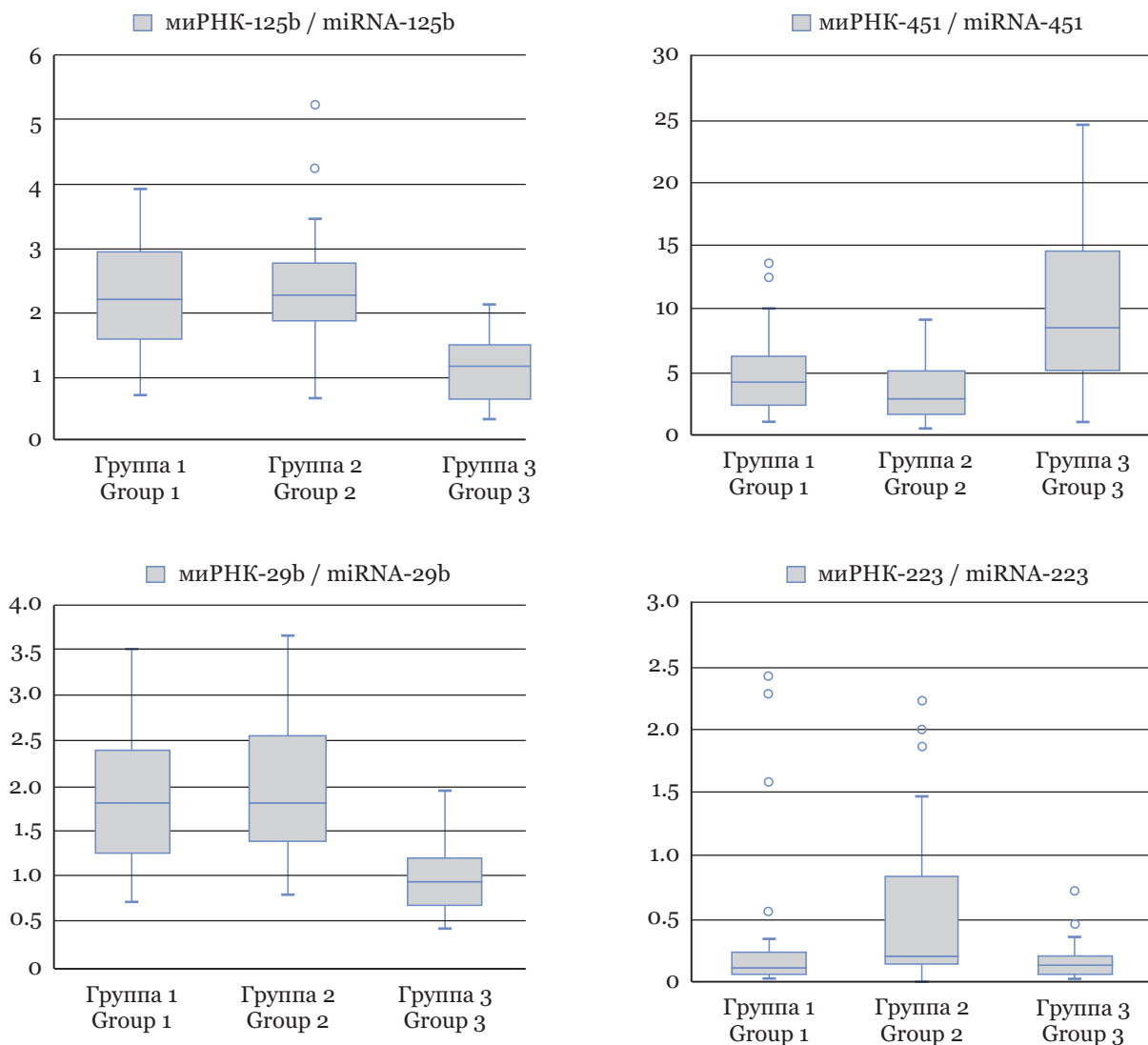


Рис. 1. Уровни экспрессии некоторых миРНК в образцах плаценты
Fig. 1. Expression levels of some miRNAs in placenta samples

экспрессии миРНК-451 по сравнению с пациентками при своевременных родах. Вместе с тем при ПР с перинатальными потерями зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии миРНК-150 в плаценте, а при отсутствии перинатальных потерь – статистически значимое увеличение уровня экспрессии миРНК-223 и миРНК-31 по сравнению с плацентами при своевременных родах. Кроме того, при ПР с перинатальными потерями по сравнению с ПР без перинатальных потерь отмечается статистически значимо более низкий уровень экспрессии миРНК-221 и миРНК-223 в плацентах.

ОБСУЖДЕНИЕ

Правильное формирование плаценты имеет решающее значение для нормального течения беременности и развития плода. Изучению про-

growth factor (PlGF) and their receptors VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/KDR. According to Barton et al. [22], PlGF levels are superior to clinical markers in predicting adverse pregnancy, and in particular PB, in women with suspected preeclampsia. At the same time, Alpini et al. [23] showed that PlGF is a target for miRNA-125b and an increased level of miRNA-125b expression contributes to a decrease in PlGF expression.

Recent studies [24] have established that miRNA-125b is a marker of vascular disease. Placental angiogenesis has been repeatedly considered as a target and a kind of model for developing methods for diagnosing and developing therapeutic effects in various variants of pregnancy pathology. At all stages of the formation and development of placental vessels, VEGF is considered to be a key marker of placental angiogenesis. During normal pregnancy, VEGF

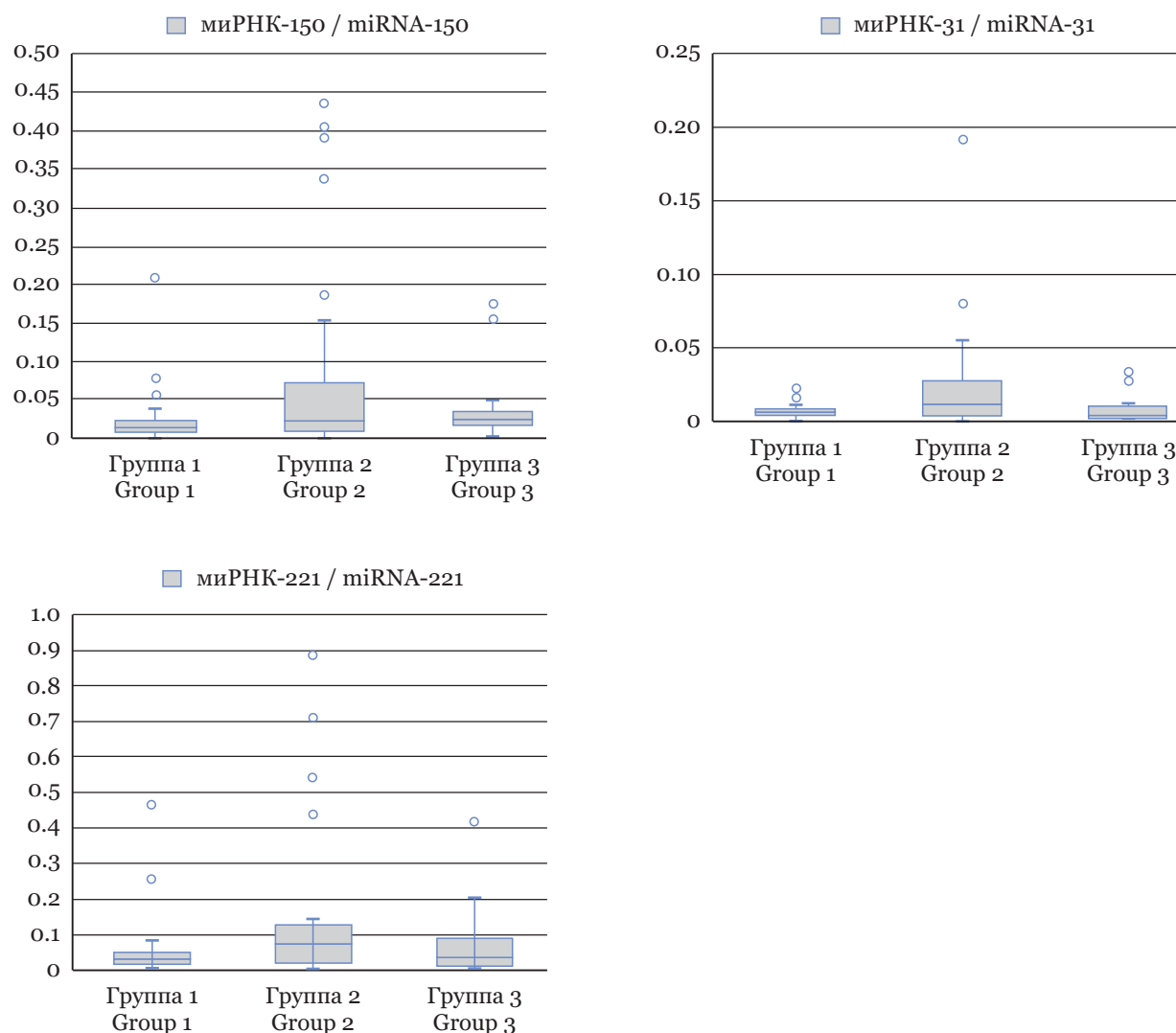


Рис. 1 (окончание). Уровни экспрессии некоторых миРНК в образцах плаценты
Fig. 1 (ending). Expression levels of some miRNAs in placenta samples

филия экспрессии миРНК, участвующих в регуляции молекулярно-биологических процессов, происходящих в плаценте, посвящено небольшое количество исследований [16–18]. В то же время известно, что aberrantная экспрессия миРНК может способствовать нарушению пролиферации, апоптоза, ангиогенеза и других биологических процессов [19–21].

Ангиогенез и васкулогенез контролируются многочисленными факторами роста и цитокинами, включая vascular endothelial growth factor (VEGF), placenta growth factor (PlGF) и их рецепторы VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/KDR. По мнению J.R. Barton et al. [22], уровни PlGF превосходят клинические маркеры в прогнозировании неблагоприятной беременности, и в частности ПР, у женщин с подозрением на преэклампсию. При этом G. Alpini et al. [23] показали, что PlGF явля-

expression in the human placenta increases in proportion to gestational age [25]. A. Ray and B.K. Ray [26] showed that, in mammary gland cells, increased expression of miRNA-125b suppresses VEGF through the direct target of SAF-1. These results highlight the role of miRNA-125b as an anti-angiogenic regulator. This coincides with the opinion of Zhou et al. [27], who state that a high expression level of miRNA-125b suppresses angiogenesis. The same phenomenon, but with ovarian carcinoma, was also pointed out by Not et al. [28], who found that miRNA-199a and miRNA-125b suppress angiogenesis in tumor cells by suppressing the expression of HIF-1 α /VEGF.

According to the literature [29], miRNA-125b expression is significantly increased in patients with preeclampsia, both in placental tissues and in blood serum. It was shown that miRNA-125b promotes an

Таблица 1. Значимость различий относительных уровней экспрессии изучаемых миРНК между сравниваемыми группами (*p*)**Table 1.** The significance of differences in the relative expression levels of the studied miRNAs between the compared groups (*p*)

миРНК miRNA	1-я группа vs 3-я группа Group 1 vs group 3	2-я группа vs 3-я группа Group 2 vs group 3	1-я группа vs 2-я группа Group 1 vs group 2
31	0.672265	0.039289	0.059699
100	0.095495	0.981995	0.283414
146	1.000000	0.171263	0.189217
150	0.014200	0.603467	0.219448
204	0.290751	0.993998	0.506118
221	0.768826	0.077240	0.021329
223	0.982846	0.003203	0.016868
1246	0.768826	0.124443	0.104059
128	0.801903	0.815579	0.570889
let7a	0.971414	0.803912	0.894319
126	0.384938	0.723580	0.639305
451	0.001373	0.000018	0.059699
23a	0.425572	0.603467	0.774340
21	0.790835	0.301405	0.337071
125b	0.000001	0.000001	0.542659
26a	0.229677	0.186041	0.972114
29b	0.000001	0.000001	0.721339
191	0.495459	0.512346	0.828398

Примечание. Полужирным выделены статистически значимые различия.

Notes. Statistically significant differences are highlighted in bold.

ется мишенью для миРНК-125b и повышенный уровень экспрессии миРНК-125b способствует снижению экспрессии PlGF.

Исследованиями последних лет [24] установлено, что миРНК-125b является маркером сосудистых заболеваний. Плацентарный ангиогенез неоднократно рассматривался в качестве мишени и своеобразной модели для разработки методов диагностики и отработки терапевтических воздействий при различных вариантах патологии беременности. На всех этапах формирования и развития сосудов плаценты VEGF принято считать ключевым маркером плацентарного ангиогенеза. Во время нормальной беременности экспрессия VEGF в плаценте человека увеличивается пропорционально сроку беременности [25]. A. Ray, B.K. Ray [26] показали, что в клетках молочной железы повышенный уровень экспрессии миРНК-125b подавляет VEGF через прямую мишень SAF-1. Эти результаты подчеркивают роль миРНК-125b в качестве антиангиогенного регулятора. Это совпадает с мнением S. Zhou et al. [27], которые утверждают, что высокий уровень экспрессии миРНК-125b подавляет ангиогенез. На это же явление, но при карциноме яичников, указывали и J. He et al. [28], которые установили, что

increase in the level of IL-8 in trophoblast cells through its effect on the direct target of this cytokine SGPL1. In addition, it was found [30] that an increased level of miRNA-125b expression leads to impaired placentation due to the regulation of KCNA1 and inhibition of trophoblast invasion. In our study, we also note an increase in the expression level of miRNA-125b in the PB groups compared with childbirth without complications, which allows us to consider miRNA-125b one of the key participants in the pathogenesis of PB.

The mother's body adapts to the growing need of the fetus for glucose as the pregnancy progresses [31]. At the same time, one of the most important participants in the regulation of glucose metabolism at the placental level is glucose transporter type 1 (GLUT1) [32], and miRNA-125b is involved not only in the regulation of angiogenesis, but also in glycolysis [33]. Zhang et al. [34] showed that an increased level of miRNA-125b expression suppresses GLUT1 in papillary thyroid cancer cells. Current models of glucose transport across the placenta identify GLUT1 as the main glucose transporter. Aberrant expression of GLUT1 is observed in some pathological rearrangements of the placenta [35]. It was noted [36] that GLUT1 protein expression decreases in pre-eclampsia. Thus, an increased level of miRNA-125b

миРНК-199a и миРНК-125b подавляют ангиогенез в клетках опухоли за счет подавления экспрессии HIF-1 α /VEGF.

По данным литературы [29], у пациенток с преэклампсией значительно повышена экспрессия миРНК-125b, причем как локально в тканях плаценты, так и в сыворотке крови. При этом показано, что миРНК-125b способствует увеличению уровня IL-8 в клетках трофобласта через воздействие на прямую мишень этого цитокина SGPL1. Кроме того, установлено [30], что повышенный уровень экспрессии миРНК-125b приводит к нарушению плацентации за счет регуляции KCNA1 и ингибирования инвазии трофобласта. В нашем исследовании мы также отмечаем повышение уровня экспрессии миРНК-125b в группах ПР по сравнению с родами без осложнений, что позволяет считать миРНК-125b одним из ключевых участников патогенеза ПР.

Организм матери адаптируется к возрастающей потребности плода в глюкозе по мере развития беременности [31]. При этом одним из наиболее важных участников регуляции обмена глюкозы на плацентарном уровне является glucose transporter type 1 (GLUT1) [32], а миРНК-125b участвует не только в регуляции ангиогенеза, но и гликолиза [33]. G. Zhang et al. [34] показали, что в клетках папиллярного рака щитовидной железы повышенный уровень экспрессии миРНК-125b подавляет GLUT1. Современные модели транспорта глюкозы через плаценту определяют GLUT1 в качестве основного переносчика глюкозы. Аберрантная экспрессия GLUT1 наблюдается при некоторых патологических перестройках плаценты [35]. Отмечено [36], что экспрессия белка GLUT1 снижается при преэклампсии. Таким образом, повышенный уровень экспрессии миРНК-125b может способствовать снижению уровня GLUT1 в ткани плаценты, приводя к патологическим путям течения беременности, в частности, к ПР.

По нашим данным, уровень экспрессии миРНК-29b в группах ПР превышает одноименный показатель при своевременных родах. Сегодня роль миРНК-29b в развитии плаценты не ясна, однако в ряде исследований отражено значение этой миРНК в регуляции процессов ангиогенеза и метаболизма глюкозы, ассоциированных с беременностью и ростом плода. Так, W. Tang et al. [37] установили, что миРНК-29b является супрессором ангиогенеза, способствует апоптозу и ингибирует инвазию клеток трофобласта. Авторы отмечают, что мишенями для миРНК-29b являются MCL-1 (myeloid cell

expression can contribute to a decrease in the level of GLUT1 in the placental tissue, leading to pregnancy failure, in particular, to PB.

According to our data, the expression level of miRNA-29b in the PB groups exceeds that of the same indicator in timely delivery. Today, the role of miRNA-29b in the development of the placenta is not clear; however, a number of studies reflect the importance of this miRNA in the regulation of angiogenesis and glucose metabolism processes associated with pregnancy and fetal growth. Thus, Tang et al. [37] found that miRNA-29b is an angiogenesis suppressor, it promotes apoptosis, and inhibits invasion of trophoblast cells. The authors note that the targets for miRNA-29b are MCL-1 (myeloid cell leukaemia sequence 1), MMP2 (encoding matrix metalloproteinase 2), VEGFA, and ITGB1 (integrin β 1). Teng et al. [38] believe that miRNA-29b is a negative regulator of glucose metabolism. At the same time, according to Dini et al. [39], all members of the miRNA family are potential regulators of glucose transporters (GLUTs) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1).

In addition to miRNA-125b, other miRNAs are also involved in the regulation of glycolysis in organs and tissues. Thus, studies of osteosarcoma cells showed [40] that the intensity of GLUT1 expression in them is regulated by miRNA-150. Guo et al. [41] found that glucose metabolism in glioma cells is controlled by miRNA-451 through the LKB1/AMPK/PI3K/AKT pathway regulating GLUT1 metabolism, which ultimately leads to inhibition of glucose metabolism. In our material, we found a statistically significant decrease in the expression level of miRNA-150 in the placentas of women with PB and perinatal losses and a trend towards a decrease in the level of miRNA-150 expression in cases of PB without perinatal losses. In addition, we observed a statistically significant decrease in the expression level of miRNA-451 in all PB groups in comparison with timely delivery. Thus, a decrease in the expression level of miRNA-150 and miRNA-451 may contribute to an increase in the GLUT1 pool, which, in turn, reflects a shift in sugar metabolism towards an increase in the intensity of glucose intake into the placenta [42].

Sanders et al. [43] indicate an increase in miRNA-223 expression in cervical epithelial cells in women with the earlier pregnancy. According to our data, there is also an increase in the expression level of miRNA-223 in patients of the PB group without perinatal losses in comparison with the parameter of the same name in timely delivery, although we studied placental tissue. Therefore, it can be assumed that

leukaemia sequence 1), MMP2 (encoding matrix metalloproteinase 2), VEGFA и ITGB1 (integrin β 1). Y. Teng et al. [38] полагают, что miRHK-29b является негативным регулятором метаболизма глюкозы. При этом, по данным S. Dini et al. [39], все члены семейства miRHK являются потенциальными регуляторами glucose transporters (GLUTs) и insulin-like growth factor-1 (IGF-1).

В регуляции гликолиза в органах и тканях помимо miRHK-125b принимают участие и другие miRHK. Так, при изучении клеток остеосаркомы показано [40], что интенсивность экспрессии GLUT1 в них регулируется miRHK-150. H. Guo et al. [41] установили, что обмен глюкозы в клетках глиомы контролируется miRHK-451 через путь LKB1/AMPK/PI3K/AKT, который регулирует метаболизм GLUT1, что в итоге приводит к ингибированию метаболизма глюкозы. На нашем материале мы обнаружили статистически значимое снижение уровня экспрессии miRHK-150 в плацентах женщин с ПР и перинатальными потерями и тенденцию к снижению уровня экспрессии miRHK-150 в случаях ПР без перинатальных потерь. Кроме этого, мы наблюдали статистически значимое снижение уровня экспрессии miRHK-451 во всех группах ПР в сравнении со своевременными родами. Таким образом, снижение уровня экспрессии miRHK-150 и miRHK-451 может способствовать увеличению представительства GLUT1, что, в свою очередь, отражает смещение метаболизма сахаров в сторону повышения интенсивности поступления глюкозы в плаценту [42].

A.P. Sanders et al. [43] указывают на повышение уровня экспрессии miRHK-223 в эпителиоцитах шейки матки у женщин с более ранним сроком беременности. По нашим данным, также отмечается увеличение уровня экспрессии miRHK-223 у пациенток группы ПР без перинатальных потерь в сравнении с одноименным параметром при своевременных родах, хотя мы изучали плацентарную ткань. Следовательно, можно предположить, что miRHK-223 является одним из ключевых эпигенетических регуляторов в различных тканях при беременности. Вместе с тем мы не наблюдали увеличения уровня экспрессии miRHK-223 в группе ПР с перинатальными потерями в сравнении со своевременными родами, что может быть связано как с объемом и гетерогенностью исследуемой выборки, так и с фактом возможного вовлечения miRHK-223 в каскад генетических изменений, вызывающих гибель плода.

Мы наблюдали статистически значимое увеличение уровня экспрессии miRHK-31 в группе

miRHK-223 is one of the key epigenetic regulators in various tissues during pregnancy. At the same time, we did not observe an increase in the expression level of miRHK-223 in the PB group with perinatal losses in comparison with timely delivery, which may be due both to the size and heterogeneity of the study sample, and to the fact that miRHK-223 may be involved in the cascade of genetic changes causing fetal death.

We observed a statistically significant increase in miRHK-31 expression in the PB group without perinatal losses. Kim et al. [44] showed that TNF α and miR-31-5p are negative regulators of angiogenesis and trophoblastic invasion in an *ex vivo* cultured model of human placental arterial vessels, which is a typical feature of preeclampsia. The interaction between endothelial cells and endovascular trophoblasts, according to the authors, is critical for successful trophoblast invasion and placental blood flow. These data may indicate the place of miRHK-31 in the group of angiogenesis regulators.

When analyzing placental samples in groups, we obtained results indicating a statistically significant decrease in the level of miRHK-221 expression in the PB group with perinatal losses compared to the PB group without perinatal losses. According to Hu et al. [45], the expression level of miRHK-221 increases with the development of the placenta, and its target is DDIT4, which is involved in the development of the nervous system of the embryo. Ji and Liu [46] note that the miRHK-221/222 cluster can promote apoptosis of human trophoblastic cells and placental dysfunction by suppressing the expression of the apoptosis-inhibiting protein bcl-2. At the same time, it was shown experimentally [47] that the expression level of miRHK-221 decreases in rat placental tissues during pregnancy and negatively correlates with the level of glucose in the blood of animals. The authors note that to date, the exact mechanism by which miRHK-221 can affect PB is not known, but there is no doubt that this miRHK is placenta-specific and is involved in the regulation of its development.

CONCLUSION

Aberrant expression levels of miRHK-125b, miRHK-29b, and miRHK-451 in the placentas of patients with premature birth indicate their involvement in the pathogenesis of the latter, apparently due to impaired regulation of angiogenesis, apoptosis, trophoblast invasion, and glucose metabolism.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

ПР без перинатальных потерь. S. Kim et al. [44] показали, что TNF α и miR-31-5p являются негативными регуляторами ангиогенеза и трофобластической инвазии на культивируемой *ex vivo* модели плацентарных артериальных сосудов человека, что является типичным признаком преэклампсии. Взаимодействие между эндотелиальными клетками и эндovasкулярными трофобластами, по мнению авторов, имеет решающее значение для успешной инвазии трофобласта и плацентарного кровотока. Эти данные могут указывать на место miRНК-31 в группе регуляторов ангиогенеза.

При анализе образцов плаценты в группах мы получили результаты, свидетельствующие о статистически достоверном снижении уровня экспрессии miRНК-221 в группе ПР с перинатальными потерями по сравнению с группой ПР без перинатальных потерь. По данным В. Hu et al. [45], уровень экспрессии miRНК-221 увеличивается по мере развития плаценты, а ее мишенью является DDIT4, участвующий в развитии нервной системы эмбриона. L.X. Ji, J. Liu [46] отмечают, что кластер miRНК-221/222 может способствовать апоптозу трофобластических клеток

человека и дисфункции плаценты за счет подавления экспрессии белка, ингибирующего апоптоз bcl-2. При этом в эксперименте показано [47], что уровень экспрессии miRНК-221 снижается в тканях плаценты крыс при развитии беременности и отрицательно коррелирует с уровнем глюкозы в крови животных. Авторы отмечают, что на сегодняшний день не известно точного механизма, с помощью которого miRНК-221 может влиять на ПР, однако не вызывает сомнения, что эта miRНК является плацента-специфичной и участвует в регуляции ее развития.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аберрантные значения уровней экспрессии miRНК-125b, miRНК-29b и miRНК-451 в плацентах пациенток с преждевременными родами свидетельствуют об их участии в патогенезе последних, по-видимому, за счет нарушения регуляции процессов ангиогенеза, апоптоза, инвазии трофобласта и метаболизма глюкозы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Щеголев А.И. Современная морфологическая классификация повреждений плаценты // *Акушерство и гинекология*. 2016;4:16–23. doi: 10.18565/aig.2016.4.16-23.
2. Robbins J.R., Bakardjiev A.I. Pathogens and the placental fortress // *Curr. Opin. Microbiol.* 2012;15(1):36–43. doi: 10.1016/j.mib.2011.11.006.
3. Щеголев А.И., Серов В.Н. Клиническая значимость поражений плаценты // *Акушерство и гинекология*. 2019;3:54–62. doi: 10.18565/aig.2019.3.54-62.
4. Низяева Н.В. Гистологические критерии воспалительных изменений плодных оболочек, плаценты и пуповины // *Международ. журн. прикладных и фундаментальных исследований*. 2018;3:180–188. doi: 10.17513/mjfi.12172.
5. Fromm B., Domanska D., Høye E. et al. MirGeneDB 2.0: the metazoan microRNA complement // *Nucleic Acids Res.* 2020;8:48(D1):D132–D141. doi: 10.1093/nar/gkz885.
6. Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Романова А.А., Логвинов С.В. МикроРНК и преждевременная овариальная недостаточность // *Акушерство и гинекология*. 2020;1:40–46. doi: 10.18565/aig.2020.1.40-46.
7. Ardekani A.M., Naeini M.M. The role of microRNAs in human diseases // *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 2010;2(4):161–179.
8. Ali A., Hadlich F., Abbas M.W. 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.

REFERENCES

1. Shchegolev A.I. Current morphological classification of damages to the placenta. *Obstetrics and Gynecology*. 2016;4:16–23. doi: 10.18565/aig.2016.4.16-23. (In Russ.)
2. Robbins J.R., Bakardjiev A.I. Pathogens and the placental fortress. *Curr. Opin. Microbiol.* 2012;15(1):36–43. doi: 10.1016/j.mib.2011.11.006.
3. Shchegolev A.I., Serov V.N. Clinical significance of placental lesions. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;3:54–62. doi: 10.18565/aig.2019.3.54-62. (In Russ.)
4. Nizyaeva N.V. Histological criteria of inflammatory diseases of placenta membranes and umbilical cord. *International Journal of Applied and Basic Research*. 2018;3:180–188. doi: 10.17513/mjfi.12172. (In Russ.)
5. Fromm B., Domanska D., Høye E. et al. MirGeneDB 2.0: the metazoan microRNA complement. *Nucleic Acids Res.* 2020;8:48(D1):D132–D141. doi: 10.1093/nar/gkz885.
6. Dmitrieva M.L., Tikhonovskaya O.A., Romanova A.A., Logvinov S.V. MicroRNAs and premature ovarian insufficiency. *Obstetrics and Gynecology*. 2020;1:40–46. doi: 10.18565/aig.2020.1.40-46. (In Russ.)
7. Ardekani A.M., Naeini M.M. The role of microRNAs in human diseases. *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 2010;2(4):161–179.
8. Ali A., Hadlich F., Abbas M.W. 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.
9. Gu Y., Sun J., Groome L.J., Wang Y. Differential miRNA expression profiles between the first and third

9. Gu Y., Sun J., Groome L.J., Wang Y. Differential miRNA expression profiles between the first and third trimester human placentas // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2013;304(8):E836–E843. doi: 10.1152/ajpendo.00660.2012.
10. Donker R.B., Mouillet J.F., Chu T. et al. The expression profile of C19MC microRNAs in primary human trophoblast cells and exosomes // *Mol. Hum. Reprod.* 2012;18(8):417–424. doi: 10.1093/molehr/gas013.
11. Гусар В.А., Тимофеева А.В., Кан Н.Е. и др. Профиль экспрессии плацентарных микроРНК – регуляторов окислительного стресса при синдроме задержки роста плода // *Акушерство и гинекология.* 2019;1:74–80. doi: 10.18565/aig.2019.1.74-80.
12. Hromadnikova I., Kotlabova K., Hympanova L., Krofta L. Cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs are dysregulated in placental tissues affected with gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction // *PLoS One.* 2015;10(9):e0138383. doi: 10.1371/journal.pone.0138383.
13. Низяева Н.В., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л. и др. МикроРНК как важные диагностические предвестники развития акушерской патологии // *Вестн. РАМН.* 2015;70(4):484–492. doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1416.
14. *Histopathology Specimens. Clinical, Pathological and Laboratory Aspects* / ed. by D.C. Allen, R.I. Cameron. Springer, 2013.
15. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method // *Methods.* 2001;25(4):402. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
16. Низяева Н.В. Морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика поражений плаценты и их роль в патогенезе преэклампсии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2021. 48 с.
17. Hosseini M.K., Gunel T., Gumusoglu E., Benian A., Aydin K. MicroRNA expression profiling in placenta and maternal plasma in early pregnancy loss // *Mol. Med. Rep.* 2018;17(4):4941–4952. doi: 10.3892/mmr.2018.8530.
18. Xu P., Zhao Y., Liu M. et al. Variations of microRNAs in human placentas and plasma from preeclamptic pregnancy // *Hypertension.* 2014;63(6):1276–1284. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647.
19. Pileczki V., Cojocneanu-Petric R., Maralani M., Neagoe I.B., Sandulescu R. MicroRNAs as regulators of apoptosis mechanisms in cancer // *Clujul. Med.* 2016;89(1):50–55. doi: 10.15386/cjmed-512.
20. Landskroner-Eiger S., Moneke I., Sessa W.C. miRNAs as modulators of angiogenesis // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2013;3(2):a006643. doi: 10.1101/cshperspect.a006643.
21. Lenkala D., LaCroix B., Gamazon E.R. et al. The impact of microRNA expression on cellular proliferation // *Hum. Genet.* 2014;133(7):931–938. doi: 10.1007/s00439-014-1434-4.
22. Barton J.R., Woelkers D.A., Newman R.B. et al. Placental growth factor predicts time to delivery in women with signs or symptoms of early preterm preeclampsia: a prospective multicenter study // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020;222(3):259.e1–259.e11. doi: 10.1016/j.ajog.2019.09.003.
23. Alpin G., Glaser S.S., Zhang J.P. et al. Regulation of placenta growth factor by microRNA-125b in hepatotri- trimester human placentas. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2013;304(8):E836–E843. doi: 10.1152/ajpendo.00660.2012.
10. Donker R.B., Mouillet J.F., Chu T. et al. The expression profile of C19MC microRNAs in primary human trophoblast cells and exosomes. *Mol. Hum. Reprod.* 2012;18(8):417–424. doi: 10.1093/molehr/gas013.
11. Gusar V.A., Timofeeva A.V., Kan N.E. et al. The expression profile of placental microRNAs as regulators of oxidative stress in fetal growth restriction. *Obstetrics and Gynecology.* 2019;1:74–80. doi: 10.18565/aig.2019.1.74-80. (In Russ.)
12. Hromadnikova I., Kotlabova K., Hympanova L., Krofta L. Cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs are dysregulated in placental tissues affected with gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction. *PLoS One.* 2015;10(9):e0138383. doi: 10.1371/journal.pone.0138383.
13. Nizyaeva N.V., Kan N.E., Tyutyunnik V.L. et al. MicroRNAs as an important precursors of diagnostic obstetric pathology. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015;70(4):484–492. doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1416. (In Russ.)
14. Allen D.C., Cameron R.I. (eds.) (2013). *Histopathology Specimens. Clinical, Pathological and Laboratory Aspects.* Springer.
15. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods.* 2001;25(4):402. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
16. Nizyaeva N.V. (2021). Morphological and molecular genetic characteristics of placental lesions and their role in the pathogenesis of preeclampsia. Dr. Sci. (Med.) thesis. Moscow. 48 p. (In Russ.)
17. Hosseini M.K., Gunel T., Gumusoglu E., Benian A., Aydin K. MicroRNA expression profiling in placenta and maternal plasma in early pregnancy loss. *Mol. Med. Rep.* 2018;17(4):4941–4952. doi: 10.3892/mmr.2018.8530.
18. Xu P., Zhao Y., Liu M. et al. Variations of microRNAs in human placentas and plasma from preeclamptic pregnancy. *Hypertension.* 2014;63(6):1276–1284. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647.
19. Pileczki V., Cojocneanu-Petric R., Maralani M., Neagoe I.B., Sandulescu R. MicroRNAs as regulators of apoptosis mechanisms in cancer. *Clujul. Med.* 2016;89(1):50–55. doi: 10.15386/cjmed-512.
20. Landskroner-Eiger S., Moneke I., Sessa W.C. miRNAs as modulators of angiogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2013;3(2):a006643. doi: 10.1101/cshperspect.a006643.
21. Lenkala D., LaCroix B., Gamazon E.R. et al. The impact of microRNA expression on cellular proliferation. *Hum. Genet.* 2014;133(7):931–938. doi: 10.1007/s00439-014-1434-4.
22. Barton J.R., Woelkers D.A., Newman R.B. et al. Placental growth factor predicts time to delivery in women with signs or symptoms of early preterm preeclampsia: a prospective multicenter study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020;222(3):259.e1–259.e11. doi: 10.1016/j.ajog.2019.09.003.
23. Alpin G., Glaser S.S., Zhang J.P. et al. Regulation of placenta growth factor by microRNA-125b in hepato-

23. Alpini G., Glaser S.S., Zhang J.P. et al. Regulation of placenta growth factor by microRNA-125b in hepatocellular cancer // *J. Hepatol.* 2011;55(6):1339–1345. doi: 10.1016/j.jhep.2011.04.015.
24. Chao C.T., Yeh H.Y., Yuan T.H. et al. MicroRNA-125b in vascular diseases: An updated systematic review of pathogenetic implications and clinical applications // *J. Cell Mol. Med.* 2019;23(9):5884–5894. doi: 10.1111/jcmm.14535.
25. Chen D.B., Zheng J. Regulation of placental angiogenesis // *Microcirculation.* 2014;21(1):15–25. doi: 10.1111/micc.12093.
26. Ray A., Ray B.K. 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.
27. Zhou S., Zhang P., Liang P., Huang X. The expression of miRNA-125b regulates angiogenesis during the recovery of heat-denatured HUVECs. *Burns.* 2015;41(4):803–811. doi:10.1016/j.burns.2014.10.012.
28. He J., Jing Y., Li W. et al. Roles and mechanism of miR-199a and miR-125b in tumor angiogenesis. *PLoS One.* 2013;8(2):e56647. doi: 10.1371/journal.pone.0056647.
29. Yang W., Wang A., Zhao C. et al. miR-125b enhances IL-8 production in early-onset severe preeclampsia by targeting sphingosine-1-phosphate lyase 1 // *PLoS One.* 2016;11(12):e0166940. doi: 10.1371/journal.pone.0166940.
30. Li Q., Han Y., Xu P. 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.
31. Kalhan S., Rossi K., Gruca L., Burkett E., O'Brien A. Glucose turnover and gluconeogenesis in human pregnancy // *J. Clin. Invest.* 1997;100(7):1775–1781. doi: 10.1172/JCI119704.
32. Ermini L., Nuzzo A.M., Ietta F. et al. Placental glucose transporters and response to bisphenol A in pregnancies from of normal and overweight mothers // *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(12):6625. doi: 10.3390/ijms22126625.
33. Huang Y.F., Zhang Y., Liu C.X., Huang J., Ding G.H. microRNA-125b contributes to high glucose-induced reactive oxygen species generation and apoptosis in HK-2 renal tubular epithelial cells by targeting angiotensin-converting enzyme 2 // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016;20(19):4055–4062.
34. Zhang G., Zhou S., Yang Q., Liu F. MicroRNA-125b reduces glucose uptake in papillary thyroid carcinoma cells // *Oncol. Lett.* 2020;20(3):2806–2810. doi: 10.3892/ol.2020.11832.
35. Illsley N.P., Baumann M.U. Human placental glucose transport in fetoplacental growth and metabolism // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020;1866(2):165359. doi: 10.1016/j.bba-dis.2018.12.010.
36. Lüscher B.P., Marini C., Joerger-Messerli M.S. et al. Placental glucose transporter (GLUT)-1 is down-regulated in preeclampsia. *Placenta.* 2017;55:94–99. doi: 10.1016/j.placenta.2017.04.023.
37. Tang W., Guo J., Gu R. et al. MicroRNA-29b-3p inhibits cell proliferation and angiogenesis by targeting VEGFA and PDGFB in retinal microvascular endothelial cells. *Mol. Vis.* 2020;26:64–75.
- cellular cancer. *J. Hepatol.* 2011;55(6):1339–1345. doi: 10.1016/j.jhep.2011.04.015.
24. Chao C.T., Yeh H.Y., Yuan T.H. et al. MicroRNA-125b in vascular diseases: An updated systematic review of pathogenetic implications and clinical applications. *J. Cell. Mol. Med.* 2019;23(9):5884–5894. doi: 10.1111/jcmm.14535.
25. Chen D.B., Zheng J. Regulation of placental angiogenesis. *Microcirculation.* 2014;21(1):15–25. doi: 10.1111/micc.12093.
26. Ray A., Ray B.K. 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.
27. Zhou S., Zhang P., Liang P., Huang X. The expression of miRNA-125b regulates angiogenesis during the recovery of heat-denatured HUVECs. *Burns.* 2015;41(4):803–811. doi:10.1016/j.burns.2014.10.012.
28. He J., Jing Y., Li W. et al. Roles and mechanism of miR-199a and miR-125b in tumor angiogenesis. *PLoS One.* 2013;8(2):e56647. doi: 10.1371/journal.pone.0056647.
29. Yang W., Wang A., Zhao C. et al. miR-125b enhances IL-8 production in early-onset severe preeclampsia by targeting sphingosine-1-phosphate lyase 1. *PLoS One.* 2016;11(12):e0166940. doi: 10.1371/journal.pone.0166940.
30. Li Q., Han Y., Xu P. 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.
31. Kalhan S., Rossi K., Gruca L., Burkett E., O'Brien A. Glucose turnover and gluconeogenesis in human pregnancy. *J. Clin. Invest.* 1997;100(7):1775–1781. doi: 10.1172/JCI119704.
32. Ermini L., Nuzzo A.M., Ietta F. et al. Placental glucose transporters and response to bisphenol A in pregnancies from of normal and overweight mothers. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(12):6625. doi: 10.3390/ijms22126625.
33. Huang Y.F., Zhang Y., Liu C.X., Huang J., Ding G.H. microRNA-125b contributes to high glucose-induced reactive oxygen species generation and apoptosis in HK-2 renal tubular epithelial cells by targeting angiotensin-converting enzyme 2. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016;20(19):4055–4062.
34. Zhang G., Zhou S., Yang Q., Liu F. MicroRNA-125b reduces glucose uptake in papillary thyroid carcinoma cells. *Oncol. Lett.* 2020;20(3):2806–2810. doi: 10.3892/ol.2020.11832.
35. Illsley N.P., Baumann M.U. Human placental glucose transport in fetoplacental growth and metabolism. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020;1866(2):165359. doi: 10.1016/j.bba-dis.2018.12.010.
36. Lüscher B.P., Marini C., Joerger-Messerli M.S. et al. Placental glucose transporter (GLUT)-1 is down-regulated in preeclampsia. *Placenta.* 2017;55:94–99. doi: 10.1016/j.placenta.2017.04.023.
37. Tang W., Guo J., Gu R. et al. MicroRNA-29b-3p inhibits cell proliferation and angiogenesis by targeting VEGFA and PDGFB in retinal microvascular endothelial cells. *Mol. Vis.* 2020;26:64–75.

- VEGFA and PDGFB in retinal microvascular endothelial cells // *Mol. Vis.* 2020;26:64–75.
38. Teng Y., Zhang Y., Qu K. et al. MicroRNA-29B (mir-29b) regulates the Warburg effect in ovarian cancer by targeting AKT2 and AKT3 // *Oncotarget*. 2015;6(38):40799–40814. doi: 10.18632/oncotarget.5695.
 39. Dini S., Zakeri M., Ebrahimpour S., Dehghanian T., Esmaeli A. Quercetin-conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles modulate glucose metabolism-related genes and miR-29 family in the hippocampus of diabetic rats // *Sci. Rep.* 2021;11(1):8618. doi: 10.1038/s41598-021-87687-w.
 40. Yuan G., Zhao Y., Wu D., Gao Ch. Mir-150 up-regulates Glut1 and increases glycolysis in osteosarcoma cells // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2017;18(4):1127–1131. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.4.1127.
 41. Guo H., Nan Y., Zhen Y. 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.
 42. Langdown M.L., Sugden M.C. Enhanced placental GLUT1 and GLUT3 expression in dexamethasone-induced fetal growth retardation // *Mol. Cell Endocrinol.* 2001;185(1–2):109–117. doi: 10.1016/S0303-7207(01)00629-3.
 43. Sanders A.P., Burris H.H., Just A.C. et al. microRNA expression in the cervix during pregnancy is associated with length of gestation // *Epigenetics*. 2015;10(3):221–228. doi: 10.1080/15592294.2015.1006498.
 44. Kim S., Lee K.S., Choi S. et al. NF- κ B-responsive miRNA-31-5p elicits endothelial dysfunction associated with preeclampsia via down-regulation of endothelial nitric-oxide synthase // *J. Biol. Chem.* 2018;293(49):18989–19000. doi: 10.1074/jbc.RA118.005197.
 45. Hu B., Xu G., Tang J. et al. microRNA221 is involved in human placental development by targeting DDIT4 // *Cell. Physiol. Biochem.* 2019;52(2):254–262. doi: 10.33594/0000000019.
 46. Ji L.X., Liu J. MicroRNA-221/222 participates in the pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy via promoting the apoptosis of human placental trophoblast HTR-8 cells // *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2018;26(8):607–611. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.08.009. (In Chinese)
 47. Zhao H., Tao S. MiRNA-221 protects islet β cell function in gestational diabetes mellitus by targeting PAK1 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019;520(1):218–224. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.09.139.
 48. Teng Y., Zhang Y., Qu K. et al. MicroRNA-29B (mir-29b) regulates the Warburg effect in ovarian cancer by targeting AKT2 and AKT3. *Oncotarget*. 2015;6(38):40799–40814. doi: 10.18632/oncotarget.5695.
 49. Dini S., Zakeri M., Ebrahimpour S., Dehghanian T., Esmaeli A. Quercetin-conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles modulate glucose metabolism-related genes and miR-29 family in the hippocampus of diabetic rats. *Sci. Rep.* 2021;11(1):8618. doi: 10.1038/s41598-021-87687-w.
 50. Yuan G., Zhao Y., Wu D., Gao Ch. Mir-150 up-regulates Glut1 and increases glycolysis in osteosarcoma cells. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2017;18(4):1127–1131. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.4.1127.
 51. Guo H., Nan Y., Zhen Y. 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.
 52. Langdown M.L., Sugden M.C. Enhanced placental GLUT1 and GLUT3 expression in dexamethasone-induced fetal growth retardation. *Mol. Cell Endocrinol.* 2001;185(1–2):109–117. doi: 10.1016/S0303-7207(01)00629-3.
 53. Sanders A.P., Burris H.H., Just A.C. et al. microRNA expression in the cervix during pregnancy is associated with length of gestation. *Epigenetics*. 2015;10(3):221–228. doi: 10.1080/15592294.2015.1006498.
 54. Kim S., Lee K.S., Choi S. et al. NF- κ B-responsive miRNA-31-5p elicits endothelial dysfunction associated with preeclampsia via down-regulation of endothelial nitric-oxide synthase. *J. Biol. Chem.* 2018;293(49):18989–19000. doi: 10.1074/jbc.RA118.005197.
 55. Hu B., Xu G., Tang J. et al. microRNA221 is involved in human placental development by targeting DDIT4. *Cell. Physiol. Biochem.* 2019;52(2):254–262. doi: 10.33594/0000000019.
 56. Ji L.X., Liu J. MicroRNA-221/222 participates in the pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy via promoting the apoptosis of human placental trophoblast HTR-8 cells. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2018;26(8):607–611. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.08.009. (In Chinese)
 57. Zhao H., Tao S. MiRNA-221 protects islet β cell function in gestational diabetes mellitus by targeting PAK1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019;520(1):218–224. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.09.139.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Казачков Евгений Леонидович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0002-4512-3421.

Семёнов Юрий Алексеевич – канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0002-3268-7981.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeny L. Kazachkov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine named after prof. V.L. Kovalenko, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-4512-3421.

Yuri A. Semenov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-3268-7981.

Yulia A. Veryaskina – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-3799-9407.

Веряскина Юлия Андреевна – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-3799-9407.

Казачкова Элла Алексеевна – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0002-1672-7058.

Чижовская Анна Валерьевна – аспирант кафедры патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0003-1574-1613.

Ella A. Kazachkova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1672-7058.

Anna V. Chizhovskaya – Graduate, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine named after prof. V.L. Kovalenko, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0003-1574-1613.

