

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

РОЛЬ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА ГЕНА *FLT1* В РАЗВИТИИ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА

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

¹ Научно-исследовательский институт
медицинской генетики Томского
национального исследовательского
медицинского центра, Российская
академия наук (634050, Томская область,
г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10,
Россия)

² Областной перинатальный центр
им. И.Д. Евтушенко (634063, Томская
область, г. Томск, ул. И. Черных, 96/1,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Гавриленко Мария Михайловна,
e-mail:
maria.gavrilenko@medgenetics.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Задержка роста плода остаётся одной из значимых патологий беременности, ассоциированной с высокой перинатальной и постнатальной заболеваемостью. Несмотря на прогресс в изучении молекулярных механизмов развития патологии, роль альтернативного сплайсинга ключевых плацентарных генов, в частности *FLT1*, кодирующего рецептор фактора роста эндотелия сосудов-1 (*VEGFR-1*), изучена недостаточно. Это ограничивает понимание связи между ангиогенезом и нарушениями развития плаценты при задержке роста плода.

Цель исследования. Оценить роль альтернативного сплайсинга гена *FLT1*, экспрессируемого в децидуальных клетках плаценты, в молекулярных механизмах задержки роста плода.

Методы. В исследование включены биоптаты материнской части плаценты пациенток с физиологической беременностью ($n = 8$) и задержкой роста плода ($n = 13$). Проведено секвенирование РНК на платформе Illumina NextSeq 2000. Анализ альтернативного сплайсинга выполнен с использованием пакета MAJIQ.

Результаты. Впервые проведён анализ альтернативного сплайсинга гена *FLT1* в децидуальных клетках плаценты при задержке роста плода. Общими для физиологической беременности и задержки роста плода являются четыре события альтернативного сплайсинга, включающие пропуск экзона, удержание интрона и два события, образующих комплекс. Кроме того, только при задержке роста плода выявлены одно комплексное событие и три события удержания интрона, отсутствующие при физиологической беременности. Суммарно, эти изменения отражают активацию механизмов, приводящих к формированию укороченных изоформ рецептора *VEGFR-1*, которые действуют как антиангиогенные «ловушки» и впоследствии приводят к снижению маточно-плацентарного кровотока и развитию задержки роста плода.

Заключение. Альтернативный сплайсинг гена *FLT1* играет важную роль в патогенезе задержки роста плода. Избыточное удержание интронов и пропуск экзонов ведут к повышенной экспрессии укороченных антиангиогенных белков, нарушая баланс ангиогенеза и способствуя плацентарной дисфункции.

Ключевые слова: задержка роста плода, плацента, децидуальные клетки, *FLT1*, альтернативный сплайсинг, *VEGFR-1*, *sFlt-1*

Статья поступила: 25.09.2025
Статья принята: 18.11.2025
Статья опубликована: 25.12.2025

Для цитирования: Гавриленко М.М., Трифонов Е.А., Бабовская А.А., Сваровская М.Г., Ижойкина Е.В., Степанов В.А. Роль альтернативного сплайсинга гена *FLT1* в развитии задержки роста плода. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(6): 46-55. doi: 10.29413/ABS.2025-10.6.6

THE ROLE OF THE *FLT1* GENE ALTERNATIVE SPLICING IN THE FETAL GROWTH RETARDATION DEVELOPMENT

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

¹ Research Institute of Medical Genetics,
Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences (Ushayki
River Embankment, 10, Tomsk region,
Tomsk 634050, Russian Federation)

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

Corresponding author:

Maria M. Gavrilenko,

e-mail:

maria.gavrilenko@medgenetics.ru

RESUME

Background. Fetal growth restriction (FGR) is a major pregnancy complication often associated with placental dysfunction and angiogenic imbalance. The *FLT1* gene encodes VEGFR-1, producing both membrane receptors and soluble isoforms (sFlt-1) through alternative splicing. Soluble variants sequester VEGF/PlGF and suppress angiogenesis. While the role of sFlt-1 in preeclampsia is widely studied, its splicing regulation and contribution to FGR remain unclear.

The aim. To evaluate the alternative splicing role of the *FLT1* gene expressed in placental decidual cells in the molecular mechanisms of fetal growth retardation.

Materials and methods. The study included biopsies of the placenta maternal part of patients with physiological pregnancy ($n = 8$) and FGR ($n = 13$). RNA sequencing was performed on the Illumina NextSeq 2000 platform. Alternative splicing events were identified and quantified using the MAJIQ program.

Results. This work provides the first analysis of *FLT1* gene alternative splicing in decidual cells during FGR. Four splicing events were shared across both groups, including exon skipping, intron retention, and a complex event with two sub-events. The FGR group additionally demonstrated a unique complex event and three intron retentions absent in controls. These changes indicate a shift toward enhanced production of soluble VEGFR-1 isoforms, which act as antiangiogenic "traps", reduce uteroplacental blood flow, and contribute to growth restriction.

Conclusions. Alternative splicing of the *FLT1* gene plays an important role in the FGR pathogenesis. Excessive intron retention and exon skipping lead to increased expression of shortened antiangiogenic proteins, disrupting the balance of angiogenesis and contributing to placental dysfunction.

Key words: fetal growth retardation, placenta, decidual cells, *FLT1*, alternative splicing, VEGFR-1, sFlt-1

Received: 25.09.2025

Accepted: 18.11.2025

Published: 25.12.2025

For citation: Gavrilenko M.M., Trifonova E.A., Babovskaya A.A., Swarovskaya M.G., Izhoykina E.V., Stepanov V.A. The role of the *FLT1* gene alternative splicing in the fetal growth retardation development. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(6): 46-55. doi: 10.29413/ABS.2025-10.6.6

ОБОСНОВАНИЕ

Задержка роста плода (ЗРП) остаётся одной из ведущих причин неонатальной заболеваемости и смертности и формирует высокий риск долгосрочных нарушений здоровья у детей [1]. В патогенезе ЗРП ключевое значение имеют биологические процессы, происходящие в плаценте – органе, обеспечивающем транспорт кислорода и питательных веществ, эндокринную поддержку и иммунологическую толерантность на протяжении всей беременности [2]. Нарушение ангиогенного баланса и недостаточная васкуляризация плаценты приводят к хронической внутриутробной гипоксии, нарушению маточно-плацентарного кровотока и ограничению доставки субстратов, что связывает молекулярные изменения плаценты с фенотипом задержки роста плода. В этой связи особое внимание привлекает система регуляции ангиогенеза, основанная на взаимодействии сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и плацентарного фактора роста (PIGF) с их рецепторами – в первую очередь FLT1 (VEGFR-1). Эти молекулы формируют ключевую сигнальную ось, контролирующую пролиферацию, миграцию и дифференцировку эндотелиальных клеток, обеспечивая развитие и стабильность сосудистой сети плаценты [3].

Ген *FLT1* кодирует рецептор фактора роста эндотелия сосудов-1 (VEGFR-1). В классическом представлении FLT1 — это трансмембранный тирозинкиназный рецептор, участвующий в распознавании VEGF-A, PIGF и некоторых других лигандов, и модифицирующий пролиферацию эндотелия, проницаемость сосудов и ангиогенез [4]. Однако важнейшей особенностью экспрессии *FLT1* в плаценте является образование нескольких альтернативных изоформ, в том числе растворимых (sFlt-1), образующихся в результате альтернативного сплайсинга и ранней терминации транскрипта [5]. Белок sFlt-1 лишён трансмембранного и цитоплазматического домена и действует как «ловушка» для VEGF/PIGF, снижая их свободную фракцию и тем самым ингибируя ангиогенную активность [6].

В этом процессе ключевым звеном выступает альтернативный сплайсинг (АС) – один из фундаментальных механизмов посттранскрипционной регуляции [7], позволяющий из одной пре-мРНК формировать несколько изоформ мРНК, и в дальнейшем, белков с различными функциями. Этот процесс обеспечивает клеточное и тканевое разнообразие протеома и играет решающую роль в адаптации организма к изменяющимся условиям [8]. Для плаценты, как высокоспециализированного органа с быстрым темпом роста и сложной системой регуляции, альтернативный сплайсинг имеет особое значение: он обеспечивает гибкость экспрессии генов, участвующих в ангиогенезе, иммунной толерантности, транспорте питательных веществ и клеточном ответе на стресс [9]. Нарушение баланса между изоформами может дестабилизировать эти процессы и стать пусковым механизмом осложнений беременности, включая задержку роста плода.

В этом контексте особый интерес представляет альтернативный сплайсинг пре-мРНК гена *FLT1*, в ходе которого формируются как мембранные, так и плацентарно-специфические растворимые изоформы (например, sFlt-1-e15a и др.) [10]. Такой механизм можно рассматривать как тонкий регуляторный переключатель между проангиогенными и антиангиогенными сигналами. В норме умеренный синтез белка sFlt-1 в поздние сроки беременности способствует сосудистой стабилизации и предотвращает избыточный рост сосудов. При патологических сдвигах же его гиперэкспрессия приводит к ангиогенной блокаде, вследствие чего развивается плацентарная дисфункция и, как следствие, задержка роста плода.

Хотя роль белка sFlt-1 в развитии преэклампсии широко обсуждается, механистические связи между альтернативным сплайсингом пре-мРНК гена *FLT1* и задержкой роста плода на сегодняшний день не изучены, поэтому **цель данной работы** – оценить роль альтернативного сплайсинга гена *FLT1*, экспрессируемого в децидуальных клетках плаценты, в молекулярных механизмах задержки роста плода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биоматериал

Формирование выборок, клиническая характеристика (осмотр, сбор анамнеза, жалоб и параклинических данных), а также сбор биоптатов материнской части плаценты женщин с физиологической беременностью (ФБ) и задержкой роста плода проходила на базе Областного перинатального центра имени И.Д. Евтушенко города Томска. Диагноз ОЗБ.5 (недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери) выставлен акушером-гинекологом по МКБ-10 согласно критериям, указанным в клинических рекомендациях РОАГ 2022 года. Группы сопоставимы по основным клиническим и антропометрическим характеристикам (табл. 1). Также не установлено значимых различий при сравнении частот сопутствующих соматических заболеваний.

При сборе биологического материала для данного исследования соблюдались строгие критерии включения и исключения. В контрольную группу включали женщин русской национальности с физиологической одноплодной беременностью, оперативным родоразрешением и неотягощенным акушерским анамнезом, подписавших информированное согласие на участие в исследовании в возрасте 18–45 лет. В группу с задержкой роста плода включали женщин русской национальности с одноплодной беременностью, наличием критериев ЗРП, оперативным родоразрешением, подписавших информированное согласие на участие в исследовании в возрасте 18–45 лет.

Критериями исключения являлись: отказ от подписания информированного добровольного согласия на участие в исследовании, возраст младше 18 и старше 45 лет, наличие у женщины и плода хромосомных

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

TABLE 1
CHARACTERISTICS OF THE STUDIED GROUPS

Показатель	ФБ (n=8), Me [Q ₁ ;Q ₃]	ЗРП (n=13), Me [Q ₁ ;Q ₃]	p
Возраст матери, лет	33,5 [25,5;35,5]	29 [23,5;34,5]	0,547
Срок родоразрешения, недель	39,1 [38,2;39,6]	37,6 [37,1;39,1]	0,037*
Количество родов	2 [1;3]	1 [1;2]	0,140
ИМТ до беременности, кг/м ²	22,6 [18,3;27,9]	22,7 [21,6;26,0]	0,734
Пол ребенка (мальчик : девочка)	4 : 4	6 : 7	0,916
Рост ребенка, см	54 [52;55]	47 [47;49]	< 0,001*
Вес ребенка, г	3565 [3502;3775]	2290 [2065;2500]	< 0,001*
Анемия, [абс.(%)]	4(50)	5(38,5)	0,697
ССЗ, [абс.(%)]	2(25)	3(23,1)	0,972
Эндокринные заболевания, [абс.(%)]	3(37,5)	3(23,1)	0,595
Заболевания МПС, [абс.(%)]	0(0)	4(30,1)	0,161
Ожирение, [абс.(%)]	2(25)	4(30,1)	0,750

Примечание: * – отмеченные критерии статистически значимы на уровне $p < 0,05$, при сравнении использован тест Манна – Уитни. ИМТ – индекс массы тела, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, МПС – мочеполовая система.

аномалий, наличие тяжелых хронических заболеваний гинекологического и эндокринного профилей, аутоиммунные заболевания, ДВС-синдром, вредные привычки, наличие профессиональных вредностей, прием фетоповреждающих лекарственных средств во время беременности, перенесенные во время беременности инфекционные заболевания.

Экспериментальная часть

Децидуальные клетки (ДК) замороженной плацентарной ткани в количестве 1000-2000 однородных ДК на образец получены с помощью технологии лазерной микродиссекции препаратов тонких срезов с использованием прибора PALM MicroBeam UV («Carl Zeiss») [11]. Затем выделена тотальная РНК с помощью набора Single Cell RNA Purification kit («Norgen Biotek») в соответствии с протоколом. Для синтеза библиотек с целью дальнейшего полнотранскриптомного анализа использовали набор SMARTer Stranded Total RNA-Seq kit v2 («Takara BIO»). Далее библиотеки объединяли в пул и выполняли двухконцевое секвенирование на платформе Illumina NextSeq 2000 с расчетным числом прочтений на образец не менее 60 млн. Экспериментальные исследования были выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием ЦКП «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Анализ данных

Полученные в ходе полнотранскриптомного секвенирования данные выравнены на референсный геном (hg38) с помощью программы STAR. Анализ событий альтернативного сплайсинга проведен с помощью пакета «MAJIQ» в операционной системе

Linux [12]. Количественная оценка событий АС в конкретных условиях основана на предельном процентном индексе сплайсинга (PSI, Ψ) для каждого соединения, участвующего в событии. Данная программа идентифицирует и количественно оценивает комплексные (сложные LSV – Local Splicing Variations) и бинарные («классические» типы событий или простые LSV) события альтернативного сплайсинга (пропуск экзона, альтернативные 5'- и 3'-сайты сплайсинга, альтернативные первый и последний экзоны, удержание интрона, взаимоисключающие экзоны); аннотированные и новые события. Сложные LSVs определяются и визуализируются как множественные ребра в графе сплайсинга, где несколько ребер либо входят в один экзон, либо исходят из него, то есть включают два и более классических события АС.

Сравнительный статистический анализ клинических показателей проведен с помощью программы IBM Statistics 26.0 (SPSS, Inc., Чикаго, Иллинойс, США). Для сравнения параметров между исследуемыми группами использовали U-критерий Манна – Уитни. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Этическая экспертиза

Проведение настоящего исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр» (протокол № 13 от 15.11.2021). От каждого из включенных в исследование участников, получено информированное добровольное согласие.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В рамках данной работы был получен 21 транскриптом уникальных образцов плацентарной ткани, полученных от женщин с физиологической беременностью и задержкой роста плода. После выравнивания на геном человека среднее покрытие на образец составило 62 млн. прочтений. Далее с помощью программы MAJIQ для 11521 транскрипта были идентифицированы события альтернативного сплайсинга. В дальнейшем анализ включены те события AC, которые присутствовали как минимум в половине образцов одной из исследуемых групп (4 и 7 образцов, соответственно, для ФБ и ЗРП). Далее исследование сосредоточено на анализе событий альтернативного сплайсинга для целевого гена *FLT1*.

В группе с физиологической беременностью для гена *FLT1* идентифицированы четыре события альтернативного сплайсинга (рис. 1А). Два из них составляют комплексное LSV, которое включает в себя альтернативный последний экзон с уровнем PSI = 0,685 и удержание интрона с уровнем PSI = 0,292 (рис. 1Б), красным цветом указано конститутивное событие соединения экзон–экзон, которое имеет низкий процент включения в транскрипт и PSI = 0,012. Третье событие является бинарным и соответствует удержанию интрона с PSI = 0,068, тогда как конститутивное событие

экзон–экзон имеет PSI = 0,932 и более вероятно будет включено в транскрипт (рис. 1Б). Четвертое событие также является бинарным и соответствует пропуску экзона с PSI = 0,099, тогда как конститутивное событие экзон–экзон имеет PSI = 0,901 и более вероятно будет включено в транскрипт (рис. 1Г).

В группе с задержкой роста плода для гена *FLT1* идентифицированы девять событий альтернативного сплайсинга (рис. 2А). Два из них составляют комплексное LSV, аналогичное такому в других группах, которое включает в себя альтернативный последний экзон с уровнем PSI = 0,715 и удержание интрона с уровнем PSI = 0,261 (рис. 2Б), красным цветом указано конститутивное событие соединения экзон–экзон, которое имеет низкий процент включения в транскрипт и PSI = 0,017. Ещё два события образуют второй комплекс LSV, состоящий из пропуска экзона с PSI = 0,938 и удержания интрона с PSI = 0,057, тогда как для конститутивного события уровня PSI = 0,005 (рис. 2Б). Из оставшихся пяти событий, четыре являются удержанием интрона с уровнями PSI: 0,08; 0,144; 0,072; 0,093, соответственно (рис. 2Г). И последнее — это пропуск экзона, который также встречается в двух других группах, но при этом имеет в 2 раза больший индекс сплайсинга PSI = 0,207, конститутивное событие экзон–экзон имеет PSI = 0,793 и более вероятно будет включено в транскрипт (рис. 2Д).

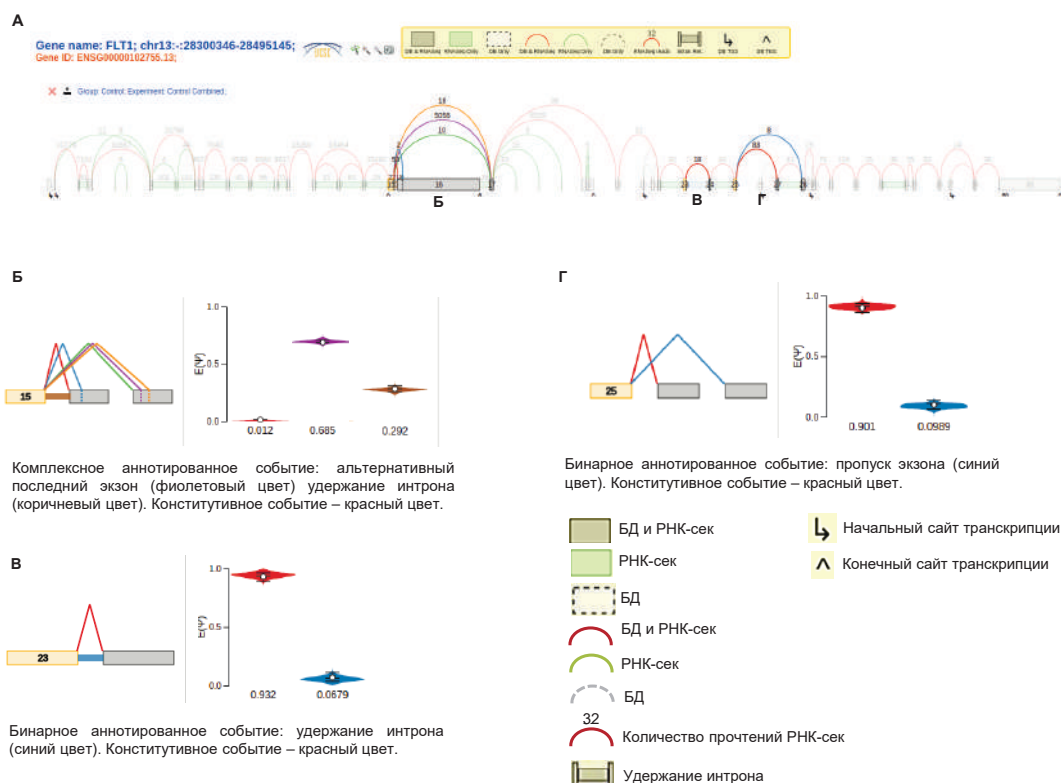


РИС. 1.

Визуализация событий AC в децидуальных клетках плаценты для гена *FLT1* в контрольной группе с помощью программы MAJIQ VOILA. **А** – интрон-экзонная структура гена *FLT1*; **Б-Г** – статистически значимые события в интрон-экзонной структуре.

FIG. 1.

Visualization of AS events in placental decidual cells for the *FLT1* gene in the control group using the MAJIQ VOILA program. **A** – intron-exon structure of the *FLT1* gene; **B-G** – statistically significant events in the intron-exon structure.

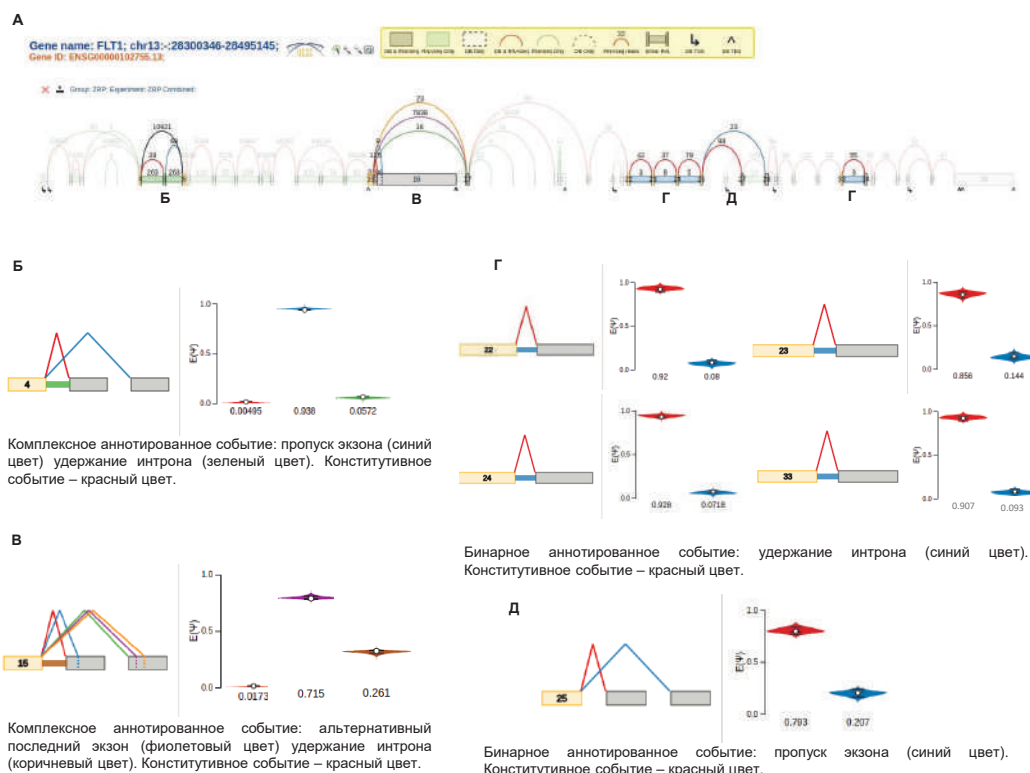


РИС. 2.

Визуализация событий АС в децидуальных клетках плаценты для гена FLT1 в группе с задержкой роста плода с помощью программы MAJIQ VOILA. **А** – интрон-экзонная структура гена FLT1; **Б-Д** – статистически значимые события в интрон-экзонной структуре.

Таким образом, можно наблюдать четыре общих события альтернативного сплайсинга для исследуемых групп, два из которых создают комплексное событие, одно является удержанием интрона и ещё одно – пропуском экзона, но при этом незначительно отличаются индексы сплайсинга, за исключением пропуска экзона в группе с задержкой роста плода, где PSI возрастает примерно в два раза. В группе с задержкой роста плода также мы можем наблюдать ещё два события, образующих комплекс из удержания интрона и пропуска экзона, а также три события с удержанием интрона, которых нет в группе с физиологической беременностью.

При анализе экспрессии транскриптов гена FLT1 в образцах плацентарной ткани были идентифицированы несколько изоформ, включая полно-размерный вариант ENST00000282397.9 (FLT1-201) и укороченные растворимые формы, представленные транскриптами ENST00000615840.5 (sFLT1-i13/FLT1-207), ENST00000639477.1 (sFLT1-e15a/FLT1-209), а также ENST00000540678.2 (FLT1-203) и ENST00000543394.2 (FLT1-205), не имеющими белковых продуктов. Сравнительный анализ между группами с физиологической беременностью и задержкой роста плода не выявил статистически значимых различий в уровне экспрессии отдельных изоформ ($p = 0,059$ при сравнении полной изоформы с суммарной экспрессией укороченных транскриптов), что, вероятно, обусловлено небольшим

FIG. 2.

Visualization of AS events in placental decidual cells for the FLT1 gene in the fetal growth retardation using the MAJIQ VOILA program. **A** – intron-exon structure of the FLT1 gene; **B-D** – statistically significant events in the intron-exon structure.

объемом выборки. Однако отмечена тенденция к относительному увеличению экспрессии коротких растворимых транскриптов при ЗРП, что указывает на важность дальнейших исследований с увеличенными когортами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Выявленные различия в событиях альтернативного сплайсинга между группами с физиологической беременностью и задержкой роста плода позволяют говорить о перестройке посттранскрипционного контроля в децидуальных клетках.

Особый интерес представляет почти двукратное повышение индекса PSI для события пропуска экзона в группе с ЗРП. Пропуск экзона может изменять длину белка, приводить к выпадению критически важных доменов или формированию нефункциональной или измененной по свойствам укороченной изоформы. В литературе есть данные о том, что пропуск экзонов 14-15 в гене FLT1 формирует укороченные изоформы, изменяющие внеклеточный домен рецептора и его способность связывать VEGF и PlGF [13]. Нами было зафиксировано повышение вероятности пропуска экзона 26. Такое событие может влиять на ангиогенную активность и снизить адаптивный потенциал плаценты.

Более того, в области между экзонами 25 и 26 описан полиморфный маркер rs9554320, ассоциированный с регуляцией *FLT1* через взаимодействие с длинными некодирующими РНК [14]. Такие некодирующие РНК могут регулировать транскрипцию встраиваемого в них гена, конкурируя за ресурсы транскрипции и модулируя экспрессию *FLT1* в определенных тканях-мишенях, что дополнительно подчёркивает значимость наблюдаемого нами изменения.

Особое внимание привлекает тот факт, что удержание интрона встречается преимущественно в группе с задержкой роста плода. Повышенная частота удержания интронов может быть связана с нарушением работы факторов сплайсинга, регулирующих узнавание сайтов сплайсинга и сборку сплайсосомы. Известно, что гипоксические условия, характерные для плацентарной недостаточности, способны изменять экспрессию и активность ключевых регуляторов, включая семейства SRSFs (факторы сплайсинга, богатые серином/аргинином) и hnRNPs (гетерогенные ядерные рибонуклеопротеины), что приводит к сдвигам в процессинге пре-мРНК [15, 16]. Кроме того, гипоксия индуцирует экспрессию HIF-зависимых генов, участвующих в контроле посттранскрипционной регуляции, а также может влиять на фосфорилирование факторов сплайсинга, изменяя их сродство к мишеням [17]. В совокупности это создает условия для аномального удержания интронов, что может служить молекулярным

отражением адаптивного или патологического ответа плацентарных клеток на хронический стресс. Интроны содержат многочисленные регуляторные элементы, а также стоп-кодоны, запускающие деградацию мРНК по механизму нонсенс-опосредованного распада (NMD) [18]. В результате возрастает вероятность синтеза нефункциональных или нестабильных транскриптов, что ведёт к снижению уровня полноценного белка. Для *FLT1* это означает уменьшение количества полноразмерных функциональных рецепторов и смещение баланса в сторону растворимых форм. Ранее описаны удержания других интронов. Классический плацентарный вариант sFlt1-i13 образуется за счёт удержания интрона 13 и раннего полиаденилирования [19, 20]. Это приводит к укороченному белку, который содержит внеклеточный лиганд-связывающий домен, но лишён трансмембранного и тирозинкиназного домена. В некоторых случаях также наблюдается удержание интрона 14, что создаёт ещё одну растворимую изоформу [21].

Также стоит отметить большое количество событий АС в области 15 экзона. Вариант sFlt1-e15a формируется через включение альтернативного экзона 15a (расположен после стандартного экзона 15) и раннюю терминацию транскрипта, что хорошо описано при преэклампсии [22]. Наши данные показывают, что аналогичный механизм может быть значим и для задержки роста плода (рис. 3).

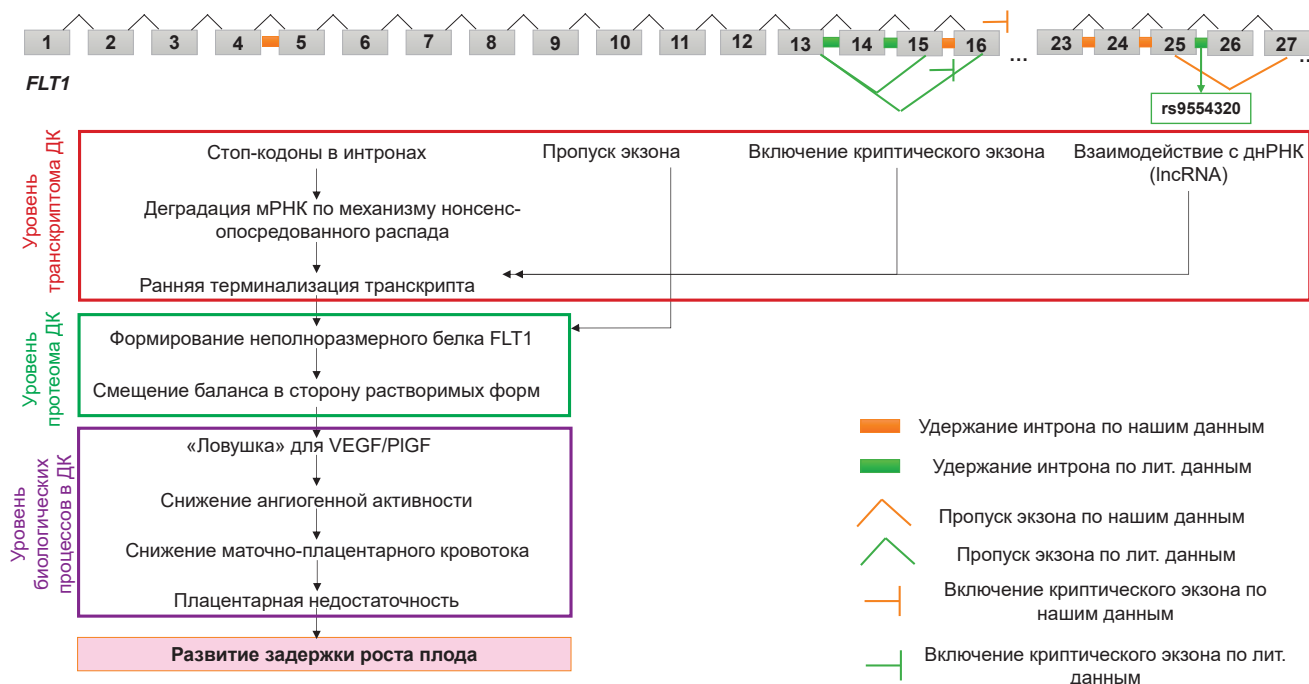


РИС. 3.

Механизмы альтернативного сплайсинга гена *FLT1* и их связь с патофизиологическими звеньями задержки роста плода. На рисунке представлена схема интрон-экзонной структуры гена *FLT1* с событиями альтернативного сплайсинга, идентифицированных по нашим и литературным данным. днРНК – длинная некодирующая РНК.

FIG. 3.

Mechanisms of the *FLT1* gene alternative splicing and their relation to the pathophysiological links of fetal growth retardation. The figure shows a diagram of the intron-exon structure of the *FLT1* gene with alternative splicing events identified from our and literature data. dнRNA is a long non-coding RNA.

На представленном рисунке схематично показаны ключевые патофизиологические механизмы, связывающие альтернативный сплайсинг пре-мРНК гена *FLT1* с развитием задержки роста плода. В верхней части диаграммы отражены молекулярные события на уровне транскриптома децидуальных клеток. На транскрипционном уровне в децидуальных клетках фиксируются события удержания интронов, пропуска экзонов и включения криптических экзонов, что формирует преждевременные стоп-кодоны и инициирует нон-сенс-опосредованный распад мРНК, а также процессы ранней терминации транскрипта. Эти процессы локализованы как по нашим данным, так и по данным литературы, в области экзонов 13–15 и экзона 26, образуя «горячую точку» альтернативного сплайсинга. Даже количественно незначительные отличия в частоте отдельных событий альтернативного сплайсинга могут приводить к принципиальным сдвигам в функциональной организации плаценты.

На следующем уровне показано, что подобные изменения препятствуют формированию полноразмерного трансмембранного рецептора FLT1, смещая баланс в сторону образования его растворимых изоформ (sFlt-1). Последние действуют как молекулярные «ловушки» для VEGF и PlGF, связывая их и препятствуя взаимодействию с полноценными рецепторами на поверхности эндотелиальных клеток. В результате резко уменьшается биодоступность ключевых факторов роста сосудов, что ослабляет стимуляцию пролиферации, миграции и выживания эндотелиальных клеток. Это снижает ангиогенную активность, ограничивает не только рост новых сосудов, но и стабильность уже сформированных капилляров.

С патофизиологической точки зрения это означает снижение ангиогенной активности, уменьшение плотности и ветвления сосудистого русла ворсинчатого дерева, а также ухудшение процессов васкулогенеза в ранние сроки и ангиогенеза в последующие этапы беременности. В клиническом контексте данные изменения проявляются в виде снижения маточно-плацентарного кровотока, создавая условия для хронической плацентарной гипоперфузии. На фоне этого формируется плацентарная недостаточность: доставка кислорода и питательных веществ к плоду становится неадекватной его потребностям. На системном уровне такие нарушения проявляются как хроническая гипоксия и энергетический дефицит у плода, что приводит к развитию задержки роста плода и повышенному риску перинатальных осложнений. Таким образом, рисунок иллюстрирует патогенетическую цепочку: от молекулярных событий альтернативного сплайсинга пре-мРНК гена *FLT1* до нарушения плацентарных функций и клинических проявлений ЗРП.

Интересным является факт появления дополнительных комплексных событий только в группе с ЗРП. Их наличие может означать, что в условиях патологии клетки плаценты вынуждены использовать более вариативные, но менее эффективные способы генерации белковых изоформ. Это можно рассматривать как маркер

нестабильности транскриптома, возникающей под действием хронической гипоксии, окислительного стресса и воспалительных сигналов. Это приводит к тому, что клеточные процессы адаптируются ценой потери стабильности и функциональной согласованности. Наблюдаемая картина подтверждает, что альтернативный сплайсинг является не просто вторичным отражением патологического процесса, а активным фактором патогенеза, определяющим баланс между адаптацией и декомпенсацией при задержке роста плода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведен анализ событий альтернативного сплайсинга пре-мРНК гена *FLT1* в контексте патогенеза задержки роста плода. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при ЗРП происходит сдвиг в ландшафте АС децидуальных клеток плаценты, сопровождающийся увеличением числа удержания интронов и ростом вероятности пропуска экзонов, включая ключевые участки в области экзонов 13–15 и 26, что изменяет баланс между полноразмерными и растворимыми изоформами рецептора VEGFR-1, приводя к синтезу антиангиогенных факторов, которые блокируют VEGF/PlGF-зависимую сигнализацию и ограничивают ангиогенез. Наряду с этим, появление новых комплексных событий сплайсинга при ЗРП отражает нестабильность транскриптома в условиях хронической гипоксии, окислительного стресса и воспалительных процессов. Таким образом, полученные данные подчёркивают значимость альтернативного сплайсинга пре-мРНК гена *FLT1* в формировании плацентарной недостаточности и открывают перспективы его использования как потенциального молекулярного маркера в изучении патофизиологических механизмов задержки роста плода. Анализ специфических паттернов сплайсинга циркулирующей РНК матери может в перспективе использоваться для стратификации риска задержки роста плода. Дальнейшие исследования с расширением выборки и валидацией результатов на уровне белков позволят определить диагностическую и прогностическую значимость обнаруженных событий.

Финансирование

Исследование выполнено за счет средств государственного задания по теме ФНИ № 122020200083-8.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Посисеева Л.В., Киселева О.Ю., Глик М.В. Задержка роста плода: причины и факторы риска. *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения*. 2021; 9(2(32)): 92-99. [Posiseeva LV, Kiseleva OYu, Glick MV. Fe-

tal growth retardation: causes and risk factors. *Obstetrics and Gynecology: News. Opinions. Training*. 2021; 9(2(32)): 92-99. (In Russ.). doi: 10.33029/2303-9698-2021-9-2-92-99

2. Волочаева М.В., Баев О.Р. Современные представления о патогенезе задержки роста плода. *Акушерство и гинекология*. 2021; (8): 13-17. [Volochnaeva MV, Baev OR. Modern concepts of the pathogenesis of fetal growth retardation. *Obstetrics and gynecology*. 2021; (8): 13-17. (In Russ.).] doi: 10.18565/aig.2021.8.13-17

3. Bhattacharjee J, Mohammad S, Goudreau AD, Adamo KB. Physical activity differentially regulates VEGF, PlGF, and their receptors in the human placenta. *Physiological reports*. 2021; 9(2): e14710. doi: 10.14814/phy2.14710

4. Hiratsuka S, Minowa O, Kuno J, Noda T, Shibuya M. Flt-1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998; 95(16): 9349-9354. doi: 10.1073/pnas.95.16.9349

5. Wazan LE, Widhibrata A, Liu GS. Soluble FLT-1 in angiogenesis: pathophysiological roles and therapeutic implications. *Angiogenesis*. 2024; 27(4): 641-661. doi: 10.1007/s10456-024-09942-8

6. Курцер М.А., Сичинава Л.Г., Алажажи А.О., Латышкевич О.А., Николаева Е.В. Ангиогенные факторы (sFlt-1, PlGF) у беременных с двойней и плацента-ассоциированными осложнениями. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2022; 16(5): 541-551. [Kurtser MA, Sichinava LG, Alazhazhi AO, Latyshkevich OA, Nikolaeva EV. Angiogenic factors (sFlt-1, PlGF) in twin pregnancy with placenta-associated complications. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2022; 16(5): 541-551. (In Russ.).] doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.330

7. Marasco LE, Kornblihtt AR. The physiology of alternative splicing. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2023; 24(4): 242-254. doi: 10.1038/s41580-022-00545-z

8. Wright CJ, Smith CW, Jiggins CD. Alternative splicing as a source of phenotypic diversity. *Nature Reviews Genetics*. 2022; 23(11): 697-710. doi: 10.1038/s41576-022-00514-4

9. Ruano CS, Apicella C, Jacques S, Gascoin G, Gaspar C, Miralles F, et al. Alternative splicing in normal and pathological human placentas is correlated to genetic variants. *Human Genetics*. 2021; 140(5): 827-848. doi: 10.1007/s00439-020-02248-x

10. Thomas CP, Andrews JI, Raikwar NS, Kelley EA, Herse F, Dechend R, et al. A recently evolved novel trophoblast-enriched secreted form of fms-like tyrosine kinase-1 variant is up-regulated in hypoxia and preeclampsia. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2009; 94(7): 2524-2530. doi: 10.1210/jc.2009-0017

11. Бабовская А.А., Трифонова Е.А., Сереброва В.Н., Сваровская М.Г., Зарубин А.А., Жилиякова О.В. и др. Протокол полнотранскриптомного анализа децидуальных клеток плаценты. *Молекулярная биология*. 2022; 56(2): 325-333. [Babovskaya AA, Trifonova EA, Serebrova VN, Swarovskaya MG, Zarubin AA, Zhilyakova OV, et al. Protocol of full transcriptome analysis of decidual placental

cells. *Molecular biology*. 2022; 56(2): 325-333. (In Russ.).] doi: 10.31857/s0026898422020045

12. Vaquero-Garcia J, Barrera A, Gazzara MR, Gonzalez-Vallinas J, Lahens NF, Hogenesch JB, et al. A new view of transcriptome complexity and regulation through the lens of local splicing variations. *Elife*. 2016; 5: e11752. doi: 10.7554/eLife.11752

13. Domokos A, Varga Z, Jambrovics K, Caballero-Sánchez N, Szabo E, Nagy G, et al. The transcriptional control of the VEGFA-VEGFR1 (FLT1) axis in alternatively polarized murine and human macrophages. *Frontiers in immunology*. 2023; 14: 1168635. doi: 10.3389/fimmu.2023.1168635

14. Morris BJ, Chen R, Donlon TA, Kallianpur KJ, Masaki KH, Willcox BJ. Vascular endothelial growth factor receptor 1 gene (FLT1) longevity variant increases lifespan by reducing mortality risk posed by hypertension. *Aging (Albany NY)*. 2023; 15(10): 3967. doi: 10.18632/aging.204722

15. Boutz PL, Bhutkar A, Sharp PA. Detained introns are a novel, widespread class of post-transcriptionally spliced introns. *Genes and development*. 2015; 29(1): 63-80. doi: 10.1101/gad.247361.114

16. Jakubauskiene E, Vilys L, Makino Y, Poellinger L, Kanopka A. Increased serine-arginine (SR) protein phosphorylation changes pre-mRNA splicing in hypoxia. *Journal of Biological Chemistry*. 2015; 290(29): 18079-18089. doi: 10.1074/jbc.m115.639690

17. Shih SC, Claffey KP. Hypoxia-mediated regulation of gene expression in mammalian cells. *International journal of experimental pathology*. 1998; 79(6): 347-357. doi: 10.1186/s12964-025-02471-x

18. Ge Y, Porse BT. The functional consequences of intron retention: alternative splicing coupled to NMD as a regulator of gene expression. *Bioessays*. 2014; 36(3): 236-243. DOI: 10.1002/bies.201300156

19. Thomas CP, Andrews JI, Liu KZ. Intronic polyadenylation signal sequences and alternate splicing generate human soluble Flt1 variants and regulate the abundance of soluble Flt1 in the placenta. *The FASEB Journal*. 2007; 21(14): 3885-3895. doi: 10.1096/fj.07-8809com

20. Ashar-Patel A, Kaymaz Y, Rajakumar A, Bailey JA, Karumanchi SA, Moore MJ. FLT1 and transcriptome-wide polyadenylation site (PAS) analysis in preeclampsia. *Scientific reports*. 2017; 7(1): 12139. doi: 10.1038/s41598-017-11639-6

21. Rajakumar A, Powers RW, Hubel CA, Shibata E, von Versen-Höyneck F, Plymire D, et al. Novel soluble Flt-1 isoforms in plasma and cultured placental explants from normotensive pregnant and preeclamptic women. *Placenta*. 2009; 30(1): 25-34. doi: 10.1016/j.placenta.2008.10.006

22. Palmer KR, Kaitu'u-Lino TUJ, Hastie R, Hannan NJ, Ye L, Binder N, et al. Placental-specific sFLT-1 e15a protein is increased in preeclampsia, antagonizes vascular endothelial growth factor signaling, and has antiangiogenic activity. *Hypertension*. 2015; 66(6): 1251-1259. doi: 10.1161/hypertensionaha.115.05883

Сведения об авторах

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

Трифоновна Екатерина Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эволюционной генетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ; e-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1311-7403>

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

Сваровская Мария Геннадьевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории эволюционной генетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ; e-mail: maria.swarovskaja@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5020-4971>

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

Степанов Вадим Анатольевич – доктор биологических наук, академик РАН, директор Томского НИМЦ; e-mail: genetics@tnimc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5166-331X>

Information about the authors

Maria M. Gavrilenko – junior researcher at the Laboratory of Genomic Identification and the Laboratory of Evolutionary Genetics at the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; e-mail: maria.gavrilenko@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9526-8581>

Ekaterina A. Trifonova – Cand. Sc. (Med.), Senior Researcher at the Laboratory of Evolutionary Genetics at the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; e-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1311-7403>

Anastasia A. Babovskaya – Cand. Sc. (Med.), Junior Researcher at the Laboratory of Genomic Identification and the Laboratory of Evolutionary Genetics at the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; e-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1193-5579>

Maria G. Swarovskaja – Cand. Sc. (Biol.), Researcher at the Laboratory of Evolutionary Genetics at the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; e-mail: maria.swarovskaja@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5020-4971>

Ekaterina V. Izhojkina – obstetrician-gynecologist at the Regional Perinatal Center named after I.D. Evtushenko; e-mail: katushkabig@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0007-9273-6371>

Vadim A. Stepanov – Cand. Sc. (Biol.), member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; e-mail: genetics@tnimc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5166-331X>