

Забанова Екатерина Андреевна

**Особенности ведения беременных с задержкой роста плода с учетом  
механизмов эпигенетической регуляции**

3.1.4 – акушерство и гинекология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Ростов-на-Дону

2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

Кузнецова Наталья Борисовна – доктор медицинских наук

**Официальные оппоненты:**

Кан Наталья Енкиновна – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Игнатко Ирина Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук, профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Первого МГМУ имени И.М. Сеченова

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета Д99.2.037.02 при ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте <https://1spbmgmu.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

Молчанов Олег Леонидович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Задержка роста плода (ЗРП) – осложнение беременности, при котором плод не достигает своего генетически запрограммированного потенциала роста и имеет высокий риск перинатальных осложнений (Стрижаков А.Н., Игнатко И.В. 2014; Figueras F., 2017). В современных условиях ЗРП рассматривается как полиэтиологическая универсальная реакция, развивающаяся у плода при дефиците кислорода, макро- и микронутриентов, на фоне снижения интенсивности метаболических процессов при пониженной плацентарной перфузии (Павлова Н.Г., 2007).

В Российской Федерации используются ультразвуковые и доплерометрические диагностические критерии ЗРП, предложенные консенсусом Delphi и рекомендованные Международным обществом ультразвука в акушерстве и гинекологии (Lees С.С., 2020). Осложняя до 10% всех беременностей, ЗРП вносит значительный вклад в структуру перинатальной смертности и заболеваемости (Стрижаков А.Н., 2014); у беременных с ЗРП значительно повышается риск как антенатальной гибели плода (Bukowski R., 2017; Aminu M., 2017), так и неонатальной гибели ребенка (Ray J.G., 2017).

Плацентарная недостаточность, являющаяся патофизиологической основой развития ЗРП, проявляется в нарушении функционирования плаценты, которому предшествует каскад патологических процессов на нескольких уровнях регуляции (Malhotra A., 2019; Закурина А.Н., 2014). Одной из причин патологического процесса может быть нарушение структуры генов, которые кодируют синтез тех или иных белков, гормонов и других регуляторных молекул. Помимо этого, известно, что существует несколько механизмов управления работой генов – эпигенетическая регуляция, которая влияет на их экспрессию (Макаровская Е.А., 2021). Одним из механизмов влияния на экспрессию генов являются микроРНК – короткие некодирующие последовательности длиной 18-25 нуклеотидов, функция которых заключается в управлении «работой» генов с помощью РНК-интерференции.

Изучение механизмов эпигенетической регуляции при фетоплацентарной дисфункции, приводящей к ЗРП, может привести к значительному прогрессу в понимании универсальных реакций, служащих причинами ЗРП. Анализ профиля микроРНК при ЗРП является перспективным и широко разрабатываемым направлением, поскольку они служат неинвазивными маркерами состояния плода (Хачатрян З.В., 2019; Кан Н.Е., 2021). В настоящее время известно более 500 микроРНК, связанных с

формированием и функционированием плаценты (Tsochandaridis M., 2015). Плацента-специфичные микроРНК на разных этапах развития беременности принимают участие в таких функциях, как обеспечение ангиогенеза, апоптоза, окислительного стресса (Liu W., 2016). Профиль плацента-специфичных микроРНК меняется в зависимости от срока гестации ввиду различных биологических процессов, которые преобладают на текущем этапе развития беременности, а также при развитии осложнений (Низяева Н.В., 2015).

Будучи мультигенными регуляторами, микроРНК воздействуют на гены-мишени, кодирующие сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (Huang L., 2013), инсулиноподобный фактор роста (Tang Q., 2013), Е-кадгерин (Thamotharan S., 2017) и другие регуляторы, выступая, таким образом, протекторами либо триггерами вазоспазма, оксидативного стресса, нарушений ангиогенеза в фетоплацентарной системе (Apicella C., 2019; Гусар В.А., 2019).

Выявление микроРНК, ассоциированных с ЗРП, является перспективным направлением ранней предикции и мониторинга функционального состояния плода при развитии осложнения.

**Степень разработанности темы.** МикроРНК и другие эпигенетические маркеры имеют значимый диагностический, прогностический и терапевтический потенциал, вызывая интерес у ученых всех медицинских специальностей. Так, установлено, что уровень экспрессии плацента-специфичных микроРНК может являться индикатором изменений плаценты во время беременности в зависимости от срока гестации и развития ворсинчатого дерева (Vaiman D., 2017). Исследования уровня экспрессии различных микроРНК при тех или иных осложнениях беременности ведутся с использованием разных методологий: экспрессия микроРНК анализируется в ткани плаценты (Niu Z.R., 2018; Guo D., 2018), в крови беременной (Miura K., 2017; Murakami Y., 2018), в пуповинной крови (Jurasek J., 2019; Mas-Parés B., 2019).

Следует отметить, что большинство исследований, проводимых по экспрессии микроРНК при осложнениях беременности, сосредоточено на преэклампсии (Hromadnikova I., 2015; Низяева Н.В., 2015; Apicella C., 2019). Изменение экспрессии микроРНК при иной акушерской патологии (преждевременные роды, гестационный сахарный диабет, ЗРП, невынашивание беременности и др.) изучено недостаточно и требует дальнейшего исследования. Имеющиеся в литературе данные требуют уточнения и систематизации, а также представляет интерес практическое применение этих знаний в

клинической практике акушеров-гинекологов.

В связи с вышесказанным представляется актуальным, современным и перспективным изучение профиля экспрессии микроРНК при ЗРП, предикция данного осложнения, а также прогнозирование дальнейшего течения беременности, результатов лечения и исходов для новорожденных. Этот вопрос остается недостаточно изученным и имеет значительные перспективы в акушерстве.

**Цель исследования:** улучшение предикции задержки роста плода в конце первой половины беременности и прогнозирования развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока на основании определения экспрессии плацента-специфичных микроРНК в крови беременных.

**Задачи исследования:**

1. Проанализировать особенности акушерского и соматического анамнеза, течения беременности и профиля плацента-специфичных микроРНК у пациенток, имеющих задержку роста плода в 30 недель – 31 неделю 6 дней.

2. Сопоставить уровень экспрессии плацента-специфичных микроРНК в крови у беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней при различных нарушениях кровотока в артериях плодово-плацентарной циркуляции.

3. Определить биохимические, эпигенетические и доплерометрические предикторы неблагоприятных неонатальных исходов при ЗРП в сроке гестации 30 недель – 31 неделю 6 дней.

4. Установить комплекс прогностически значимых факторов риска, совокупность которых позволяет прогнозировать развитие критических расстройств фетоплацентарного кровотока при ЗРП.

5. Выявить в 18-21 неделю прогностически значимые эпигенетические предикторы ЗРП и проанализировать их корреляционные связи с известными клиническо-анамнестическими и доплерометрическими факторами.

**Научная новизна**

Установлено различие профиля плацента-специфичных микроРНК в крови беременных в 30 недель – 31 неделю 6 дней: у беременных с задержкой роста плода статистически значимо ниже экспрессия микроРНК-103a-3p (пороговое значение (St) более 33,4,  $p = 0,001$ ), микроРНК-26a-5p (St более 34,6,  $p < 0,001$ ) и микроРНК-125b-5p (St более 37,7,  $p = 0,04$ ).

Выявлена корреляция между экспрессией микроРНК-125b-5p в крови беременных с ЗРП и тяжестью нарушений фетоплацентарного кровотока ( $r = 0,667$ ,  $p = 0,005$ ), при этом экспрессия микроРНК-125b-5p минимальна у беременных с критическими нарушениями фетоплацентарного кровотока. Также уровень экспрессии микроРНК-125b-5p при этом коррелирует с PAPP-A (связанный с беременностью плазменный протеин А) по данным биохимического скрининга в 12 недель ( $r = -0,415$ ,  $p = 0,014$ ).

Определены эпигенетические маркеры неблагоприятных исходов для новорожденных при ЗРП: уровень экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных в 30 недель – 31 неделю 6 дней коррелирует с вероятностью смерти новорожденного в неонатальном периоде ( $r = 0,326$ ,  $p = 0,012$ ). При превышении порогового значения Ct микроРНК-125b-5p в крови (43,1 единицы) беременную с ЗРП следует отнести к группе риска по неонатальной потере (Se 80%, Sp 66,7%).

Уровень экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных в 18–21 неделю коррелирует с PAPP-A в 12 недель ( $r = -0,415$ ,  $p = 0,014$ ).

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Установлены плацента-специфичные микроРНК, экспрессия которых в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней в крови значимо ниже у беременных с ЗРП: микроРНК-103a-3p (пороговое значение (Ct) более 33,4), микроРНК-26a-5p (Ct более 34,6) и микроРНК-125b-5p (Ct более 37,7).

Обнаружена корреляция между уровнем экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных с ЗРП в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней и нарушениями фетоплацентарного кровотока различной степени ( $r = 0,667$ ,  $p = 0,005$ ), с минимальной экспрессией при ретроградном кровотоке в венозном протоке плода (Me Ct = 45).

Разработана многофакторная модель расчета риска прогрессирования нарушений кровотока у беременных с ЗРП, предусматривающая оценку экспрессии микроРНК-125b-5p в крови в 30 недель – 31 неделю 6 дней и уровня PAPP-A по результатам биохимического скрининга в 11 недель – 13 недель 6 дней.

Предложен способ расчета риска развития ранней ЗРП в настоящую беременность, основанный на определении экспрессии микроРНК-103a-3p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-125b-5p в крови беременных в 18–21 неделю.

**Методология и методы исследования.** Научно-исследовательская работа выполнена в 2017–2020 гг. на базе федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Государственного бюджетного учреждения Ростовской области «Перинатальный центр» (ГБУ РО «ПЦ»), Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета (ЮФУ). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

На первом этапе обследовано 115 беременных, обследованных и родоразрешенных в 2017–2019 гг. в ГБУ РО «ПЦ», из них 15 пациенток не включены в исследование в силу наличия у них критериев исключения либо отказа от участия в исследовании. В группу 1 (основная,  $n = 59$ ) включены беременные с ЗРП по данным третьего ультразвукового скрининга (30 недель – 31 неделя 6 дней). В группу 2 (контрольную,  $n = 41$ ) включены беременные с неосложненным течением беременности в сопоставимые сроки гестации. Все пациентки дали согласие на участие в исследовании. Диагноз ЗРП выставлялся на основании данных ультразвукового и доплерометрического исследований с использованием перцентильных кривых. Критериями включения в исследование явились: возраст 18-45 лет, одноплодная беременность, наступившая в естественном цикле, срок беременности 30 недель – 31 неделя 6 дней, наличие добровольного информированного согласия на участие в исследовании; для основной группы – беременность, осложнившаяся ЗРП, для группы сравнения – беременность без ЗРП.

Критерии исключения: многоплодная беременность, тяжелая экстрагенитальная патология, врожденные пороки развития и хромосомные аномалии у плода, острые воспалительные заболевания.

На втором этапе обследовано 100 женщин, выполнивших в 2019–2020 гг. в ГБУ РО «ПЦ» второе скрининговое ультразвуковое исследование в 18-21 неделю беременности. Критерии исключения: те же, что для первого этапа.

Проведен анализ медицинской документации 200 пациенток, исследовано состояние их репродуктивного и соматического здоровья, течение беременности и особенности ультразвуковых и доплерометрических исследований. Данные для клинико-статистического ретроспективного анализа были получены путем выкопировки из первичной медицинской документации (обменные карты родильного дома, родильного отделения больницы ф.№ 113/у и истории родов ф.№ 096/у).

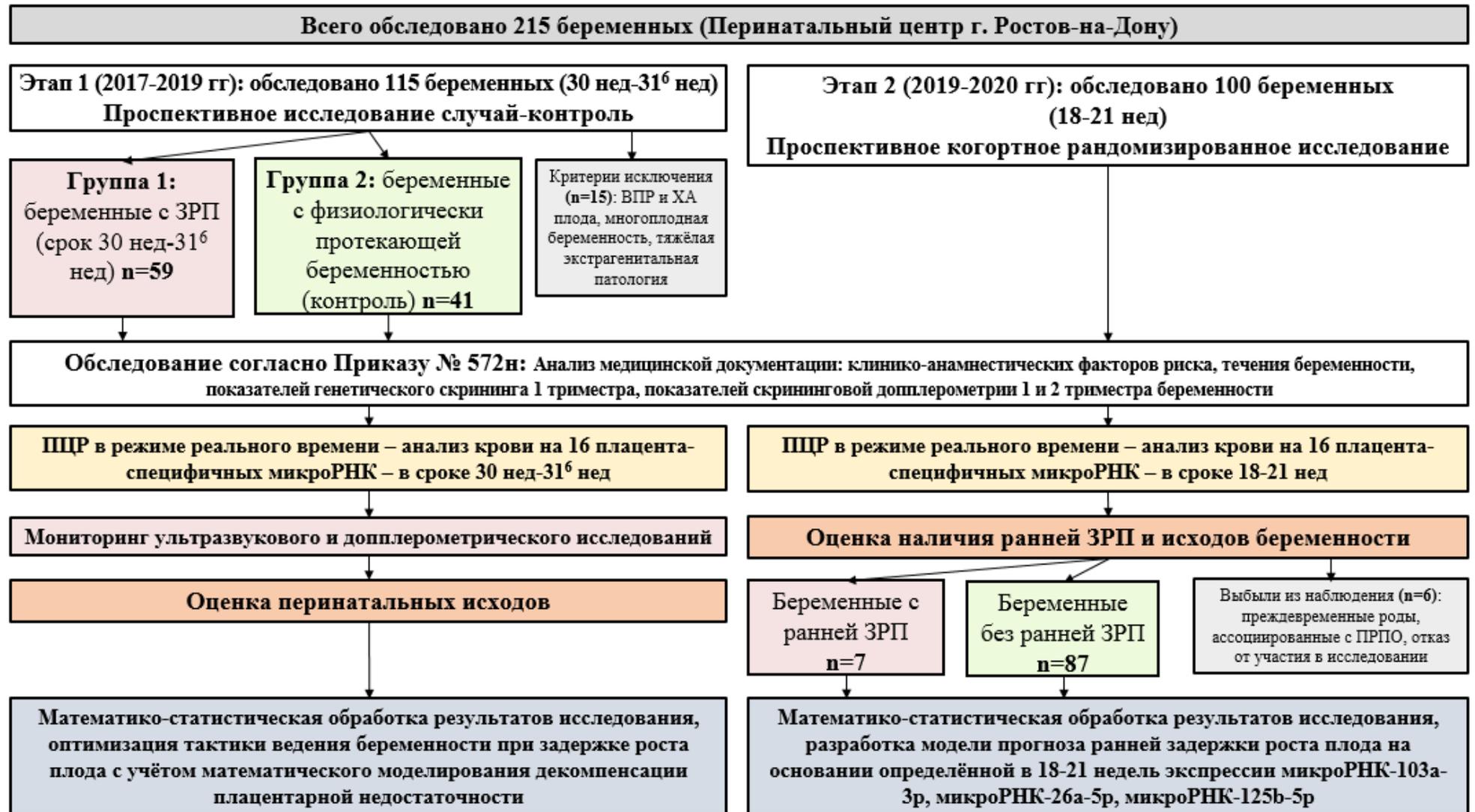


Рисунок 1 – Дизайн исследования

При поступлении в ГБУ РО «ПЦ» все пациентки 1 этапа были обследованы в соответствии с действующим на момент проведения исследования Приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 ноября 2012 г. № 572н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»" (общеклиническое, инструментальное обследование). Беременным, включенным в исследование, проводили ультразвуковое и доплерометрическое исследование на аппаратах General Electric Voluson e6 и кардиотокографию на аппаратах «УНИКОС-01» и Sonicaid Team (Великобритания).

Из числа специальных методов был использован метод ПЦР в режиме реального времени – определение экспрессии 16 плацента-специфичных микроРНК в крови беременных. Для анализа были отобраны 16 микроРНК, которые в соответствии с литературными данными могут быть отнесены к плацента-специфичным: микроРНК-10b-5p, микроРНК-103a-3p, микроРНК-122-5p, микроРНК-141-3p, микроРНК-26a-5p, микроРНК-125b-5p, микроРНК-145-5p, микроРНК-205-5p, микроРНК-517-5p, микроРНК-525-5p, микроРНК-210-3p, микроРНК-424-5p, микроРНК-363-3p, микроРНК-373-3p, микроРНК-499-5p, микроРНК-516b-5p.

Забор периферической венозной крови для исследования проводили натощак у пациенток в ГБУ РО «ПЦ», образцы крови замораживали и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения исследований. Дальнейшие этапы выделения микроРНК выполнялись на базе Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ. Тотальную РНК выделяли при помощи набора реагентов GeneJET Thermo Scientific, США. Количество и качество выделенной РНК оценивали спектрофотометрически. OD<sub>260/280</sub> образцов РНК колебалось от 1,80 до 2,00. Образцы были нормализованы до концентрации тотальной РНК 10 нг/мкл.

Полиаденилирование тотальной РНК проводили при помощи poly(A) полимеразы E.coli. Дизайн праймеров для проведения обратной транскрипции и ПЦР осуществляли в соответствии с методикой Vassels. Обратную транскрипцию проводили в 20 мкл реакционной смеси следующего состава: 5 мкл поли-А РНК, 1 мкл RT-праймера, 0,5 мкл обратной транскриптазы MMLV, 4 мкл (5X) реакционного буфера, 2 мкл dNTP, 2 мкл DTT, 4,5 мкл H<sub>2</sub>O, при 40 °C в течение 40 минут, затем при 70 °C в течение 10 минут.

Реакцию ПЦР в режиме реального времени проводили на амплификаторе CFX-96

фирмы Bio-Rad (США) в объеме 25 мкл. Состав смеси: 5 мкл qPCRmix-HS SYBR, по 1 мкл прямого и обратного праймеров, 16 мкл H<sub>2</sub>O, 2 мкл кДНК. Условия для проведения ПЦР: предварительная денатурация при 95 °С 5 мин, далее 95 °С 15 с, 60 °С 10 с, 72 °С 20 с, 45 циклов.

Концентрацию микроРНК определяли в показателе Ct (англ. Threshold cycle – «пороговый цикл») – показатель, обратно пропорциональный количеству микроРНК в образце крови.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Экспрессия микроРНК-125b-5p в крови беременных ЗРП в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней коррелирует с тяжестью нарушений фетоплацентарного кровотока ( $r = 0,667$ ,  $p = 0,005$ ), минимальная величина экспрессии (медиана Ct = 45) выявлена при критических расстройствах плодово-плацентарного кровотока. Разработанный индивидуальный алгоритм на основании многофакторной прогностической модели позволяет персонализировать акушерскую тактику у беременных с ЗРП.

2. Предикторами неблагоприятных исходов для новорожденных, перенесших ЗРП, являются критические расстройства фетоплацентарного кровотока и экспрессия микроРНК-125b-5p в крови с уровнем Ct более 43,1.

3. Персональный риск развития ранней ЗРП рассчитывается при определении экспрессии микроРНК-125b-5p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-103a-3p в крови беременных в сроке 18–21 неделя, что позволяет выделить группу риска развития данного осложнения при превышении значения функции (p) более 76,6.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 23, с использованием статистических критериев Колмогорова–Смирнова для проверки гипотезы о подчинении исследуемой выборки нормальному закону распределения, параметрического t-критерия Стьюдента и непараметрического U-критерия Манна–Уитни, а также межгруппового критерия Краскелла–Уоллиса при сравнении средних, расчете относительного риска. При выполнении сравнения двух независимых групп по одному признаку были использованы методы непараметрической статистики (точный тест Фишера, классический критерий  $\chi^2$  по Пирсону). Корреляционный анализ проводился с использованием непараметрического корреляционного критерия Спирмена. 95%-ный доверительный интервал (ДИ) для

коэффициента корреляции определяли с помощью преобразования Фишера. Использовались общепринятые уровни достоверности:  $p < 0,05$ . Для оценки качества математических моделей использовались методы ROC-анализа (receiver operating characteristic) и количественной интерпретации показателя AUC (area under curve, площадь под ROC-кривой). Для построения многофакторной прогностической модели риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока был использован метод бинарной логистической регрессии.

Апробация диссертационной работы проведена на заседании научно-координационного Совета ФГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ 3 июня 2020 года.

Основные положения данной работы неоднократно представлены на конференциях различного уровня: XVIII, XIX, XX, XXI, XXII Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и дитя» (г. Москва, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021); XIII World Congress of Perinatal Medicine (г. Белград, Сербия, 2017); XXII FIGO World Congress of Gynecology & Obstetrics (г. Рио-де-Жанейро, Бразилия, 2018); XI Региональный научно-образовательный форум и Пленум Правления Российского общества акушеров-гинекологов «Мать и Дитя – 2018» (г. Ярославль, 2018); BIRTH: Clinical challenges in labor and delivery (г. Венеция, Италия, 2018); 2nd World Congress on Maternal Fetal Neonatal Medicine (г. Лондон, Великобритания, 04-06.04.2019); XIV Общероссийский научно-практический семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (г. Сочи, 2020); Gynecological Endocrinology – 19th World Congress (г. Флоренция, Италия, 2020); X Юбилейная международная научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика» (г. Москва, 2021).

Практические рекомендации внедрены в работу консультативно-диагностической поликлиники и отделения патологии беременности ГБУ РО «ПЦ». Основные положения научно-квалификационной работы использованы при подготовке лекционного материала Центра симуляционного обучения ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Автором лично проведено обследование пациенток по установленному плану исследования, а также анализ медицинской документации. Самостоятельно выполнен сбор, обработка и анализ полученного материала, формулировка основных положений диссертационной работы.

По результатам выполненных исследований опубликовано 14 печатных работ, из них 3 в журналах, входящих в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и

изданий, рекомендованных ВАК. Получен патент на изобретение № RU2738674C1 от 12.05.2020 «Способ прогнозирования задержки роста плода» и зарегистрирована база данных «Полиморфизмы генов энергетического обмена, воспаления и системы гемостаза у здоровых женщин и с задержкой развития плода», свидетельство о государственной регистрации №2020622675 от 16.12.2020.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, 6 глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и Приложения. Работа изложена на 124 страницах машинописного текста, включает 20 таблиц и 10 рисунков. Список литературы представлен 167 источниками, из которых 126 – зарубежных авторов.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Результаты работы и их обсуждение.** На первом этапе в исследование включено 59 беременных (группа 1), которым в 30 недель – 31 неделю 6 дней на основании ультразвукового исследования был выставлен диагноз ЗРП, и 41 беременная с физиологически протекающей беременностью (группа 2), в аналогичные сроки.

При изучении роста-весовых характеристик, анамнеза, гинекологической и экстрагенитальной патологии, вредных привычек, отличий у беременных с ЗРП и в группе с физиологической беременностью выявлено не было. Возраст беременных также был сопоставим, в группе 1 он составил 30 (26; 35) лет (Me (Q1; Q3)), в группе 2 – 27 (26; 33) лет ( $p = 0,884$ ).

Течение беременности оценивали по частоте встречаемости ретрохориальных гематом, угрозы выкидыша и угрожающих преждевременных родов, токсикоза беременных, кольпита, бактериального вагиноза (различия между группами не найдены) и результатам плановых скрининговых исследований: скрининга первого триместра и второго ультразвукового скрининга.

Анализ результатов скрининга первого триместра в 11 недель – 13 недель 6 дней показал отсутствие отличий в доплерометрических показателях маточно-плацентарного кровотока, но выявил отличия в показателях PAPP-A: у беременных с ЗРП – 0,7 (0,4; 1,2) МоМ (Me (Q1; Q3)), у беременных контрольной группы – 0,8 (0,5; 1,4) МоМ, ( $p = 0,01$ ). С помощью ROC-анализа было определено пороговое значение PAPP-A (0,637 МоМ), при снижении менее которого беременная имеет высокий риск развития ЗРП.

Анализ ультразвуковых и доплерометрических исследований скрининга второго

триместра, в 18-21 неделю, выявил отличия в частоте нарушений маточно-плацентарного кровотока (НМПК). НМПК чаще отмечено у пациенток, чья беременность в дальнейшем осложнилась ЗРП – в 66% наблюдений при 8,3% в группе с физиологически протекавшей беременностью ( $p < 0,001$ ), Se – 92,1%, Sp – 74,7%. Вероятность развития ЗРП при НМПК в 18-21 неделю повышается в 21 раз (относительный шанс (ОШ) – 21,39 при 95% доверительном интервале (ДИ) 5,76-79,39).

Все беременные группы 1 после установки диагноза ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней были госпитализированы в ГБУ РО «ПЦ».

По данным УЗИ у 37 беременных (62,7%) группы 1 в 30 недель – 31 неделю 6 дней было выявлено отставание предполагаемой массы плода (ПМП) и/или окружности живота (ОЖ) плода менее одного процентиля для данного срока гестации; у 33 беременных (55,9%) было диагностировано маловодие.

По данным доплерометрии у 50 беременных (84,7%) группы 1 в 30 недель – 31 неделю 6 дней отмечено НМПК. У 44 беременных группы 1 (74,6%) выявлены нарушения фетоплацентарного кровотока (ФПК), из них у 8 пациенток отмечены критические расстройства ФПК (нулевой конечно-диастолический кровоток в артерии пуповины (АП) при ортоградном кровотоке в венозном протоке или реверсный конечно-диастолический кровоток в венозном протоке), еще у 8 пациенток, не имевших исходно критических нарушений ФПК, они развились в ходе наблюдения в ГБУ РО «ПЦ».

Исследование крови на 16 плацента-специфичных микроРНК в 30 недель – 31 неделю 6 дней показало различия в концентрации по трем микроРНК: микроРНК-103а-3р ( $p = 0,001$ ), микроРНК-26а-5р ( $p < 0,001$ ) и микроРНК-125b-5р ( $p = 0,04$ ), экспрессия которых была ниже в группе 1 (таблица 1).

Таблица 1 – Экспрессия плацента-специфичных микроРНК в крови пациенток исследуемых групп

МикроРНК	Ст в группе 1 – ЗРП ( $n = 59$ ) (Me (Q1; Q3))	Ст в группе 2 – контроль ( $n = 41$ ) (Me (Q1; Q3))	Уровень значимости ( $p$ )
МикроРНК-10b-5р	45 (45; 45)	45 (42,2; 45)	0,517
МикроРНК-103а-3р	37,7 (35; 45)	31,5 (27,3; 33)	<b>0,001</b>
МикроРНК-122-5р	37,1 (36,1; 37,8)	37,3 (36,7; 45,4)	0,218
МикроРНК-141-3р	45 (39,5; 45)	45 (45; 45)	0,407
МикроРНК-26а-5р	39,7 (36; 45)	31,8 (27,5; 33,7)	<b>&lt;0,001</b>
МикроРНК-125b-5р	45 (36; 45)	36,3 (32,9; 38,4)	<b>0,04</b>
МикроРНК-205-5р	45 (41,2; 45)	45 (37,1; 45)	0,472
МикроРНК-517-5р	24,9 (18; 31,5)	34,2 (13,4; 37,8)	0,641

МикроРНК-525-5р	27,8 (22,5; 34,6)	28,9 (19,6; 37,9)	0,747
МикроРНК-210-3р	4 (37,8; 45)	35,9 (33,5; 45)	0,247
МикроРНК-424-5р	45 (45; 45)	45 (36,4; 45)	0,247
МикроРНК-363-3р	37,2 (36,1; 45)	36,1 (31,6; 37,7)	0,101
МикроРНК-373-3р	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,774
МикроРНК-499-5р	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,517
МикроРНК-516b-5р	37,2 (35,8; 38)	37,1 (36,9; 39,2)	0,747
МикроРНК-145-5р	45 (45; 45)	41,2 (36,6; 45)	0,061

Определены пороговые значения (cut-off value) экспрессии микроРНК (Ct), имеющие оптимальный уровень чувствительности и специфичности: микроРНК-103а-3р – Ct 33,4, микроРНК-26а-5р – Ct 34,6 и микроРНК-125b-5р – Ct 37,7, позволяющие относить пациенток с экспрессией микроРНК менее данных пороговых уровней в группу риска по развитию ЗРП (рисунок 2).

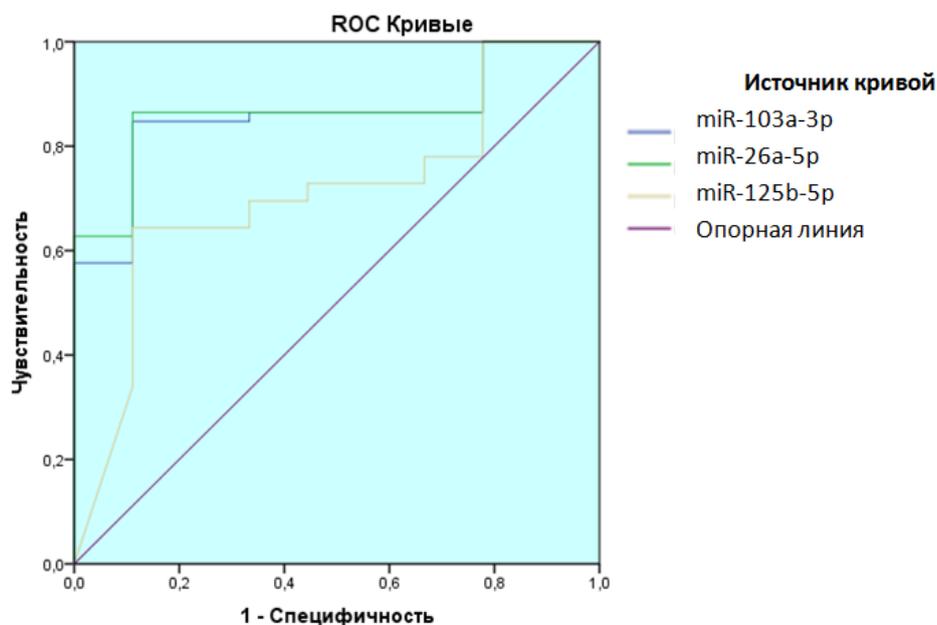


Рисунок 2 – ROC-анализ экспрессии (Ct) плацента-специфичных микроРНК в крови пациенток с ЗРП и в контрольной группе в 30 недель – 31 неделю 6 дней

С целью определения корреляций между экспрессией плацента-специфичных микроРНК в крови и степенью нарушений ФПК при ЗРП, экспрессия микроРНК оценена у беременных, не имеющих нарушений фетоплацентарного кровотока, у беременных с отсутствием критических расстройств ФПК (изолированное повышение ПИ в АП более 95-го перцентиля) и у беременных с критическими расстройствами фетоплацентарного кровотока. Статистически значимые отличия получены только для микроРНК-125b-5р: уровень ее экспрессии в крови беременных с ЗРП был ниже ( $p = 0,007$ ) у пациенток с

нарушениями ФПК, при этом минимальные значения выявлялись при критических расстройствах плодово-плацентарного кровотока (рисунок 3). Корреляционный анализ выявил прямую корреляцию между экспрессией микроРНК-125b-5p в крови беременных с ЗРП и степенью нарушений ФПК – прямая связь средней силы ( $r = 0,667, p = 0,005$ ).

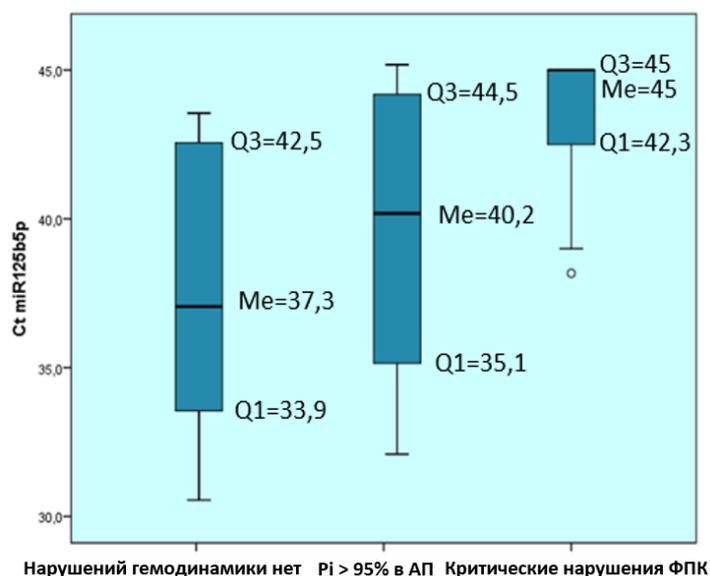


Рисунок 3 – Диаграмма размаха экспрессии микроРНК-125b-5p (Ct) в крови пациенток с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней, имеющих различные нарушения ФПК

С целью построения прогностической модели определения риска формирования критических нарушений ФПК был использован метод множественной регрессии, который позволил выделить два фактора для прогноза развития критических расстройств плодово-плацентарного кровотока: показатель PAPP-A, определенный в 12 недель, и экспрессия микроРНК-125b-5p в крови беременной в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней. Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = -3,77 - 6,48 * X_{PAPP-A} + 0,156 * X_{miR125b} \quad (1)$$

где  $p$  – вероятность критических нарушений ФПК,  $X_{PAPP-A}$  – показатель PAPP-A в генетическом скрининге первого триместра, МоМ,  $X_{miR125b}$  – Ct микроРНК-125b-5p; Ct – значение количества циклов реакции микроРНК, при котором кривая амплификации и прямая порога чувствительности прибора пересекаются.

Исходя из значений регрессионных коэффициентов было определено, что факторы PAPP-A (МоМ) и экспрессия микроРНК-125b-5p в крови (Ct) имеют обратную связь с вероятностью появления критических расстройств плодово-плацентарного кровотока.

Снижение PAPP-A на 0,1 МоМ увеличивает вероятность критических нарушений ФПК в 50 раз (ОШ для 1 МоМ PAPP-A = 0,002), а повышение Ct микроРНК-125b-5p на 1 единицу – в 1,17 раза (ОШ для 1 ед. Ct микроРНК-125b-5p = 1,17). С помощью ROC-анализа было установлено пороговое значение функции (1) в точке cut-off – оно составляет 44,6; при превышении данного порогового значения беременная может быть отнесена к группе риска по развитию критических расстройств фетоплацентарного кровотока ( $Se$  – 84,6%,  $Sp$  – 90%).

На основании полученного значения регрессионной функции беременные разделяются на две группы – с высоким ( $p \geq 44,6$ ) и низким ( $p < 44,6$ ) риском развития критических расстройств плодово-плацентарного кровотока.

Для облегчения индивидуальных расчетов по формуле (1) и вычисления прогностического индекса, позволяющего отнести беременную с ЗРП к группе низкого или высокого риска по развитию критических расстройств ФПК, была разработана компьютерная программа для персональных компьютеров и мобильных устройств, пример использования которой приведен на рисунке 4. Полученное на примере значение регрессионной функции (показатель в окошке «результат» – 79,1) позволяет отнести пациентку к группе высокого риска по появлению критических расстройств ФПК.

**Риск развития у пациентки с ЗРП декомпенсации плацентарной недостаточности**

Показатель PAPP-A в ген. скрининге первого триместра (МоМ)  Ст микроРНК-125b-5p

Результат

**Расчет**

Высокий риск

Рисунок 4 – Скрин страницы компьютерной программы для расчета риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока у беременной женщины с ЗРП на основании определения экспрессии микроРНК-125b-5p (Ct) в крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней и показателя PAPP-A (МоМ) в 12 недель

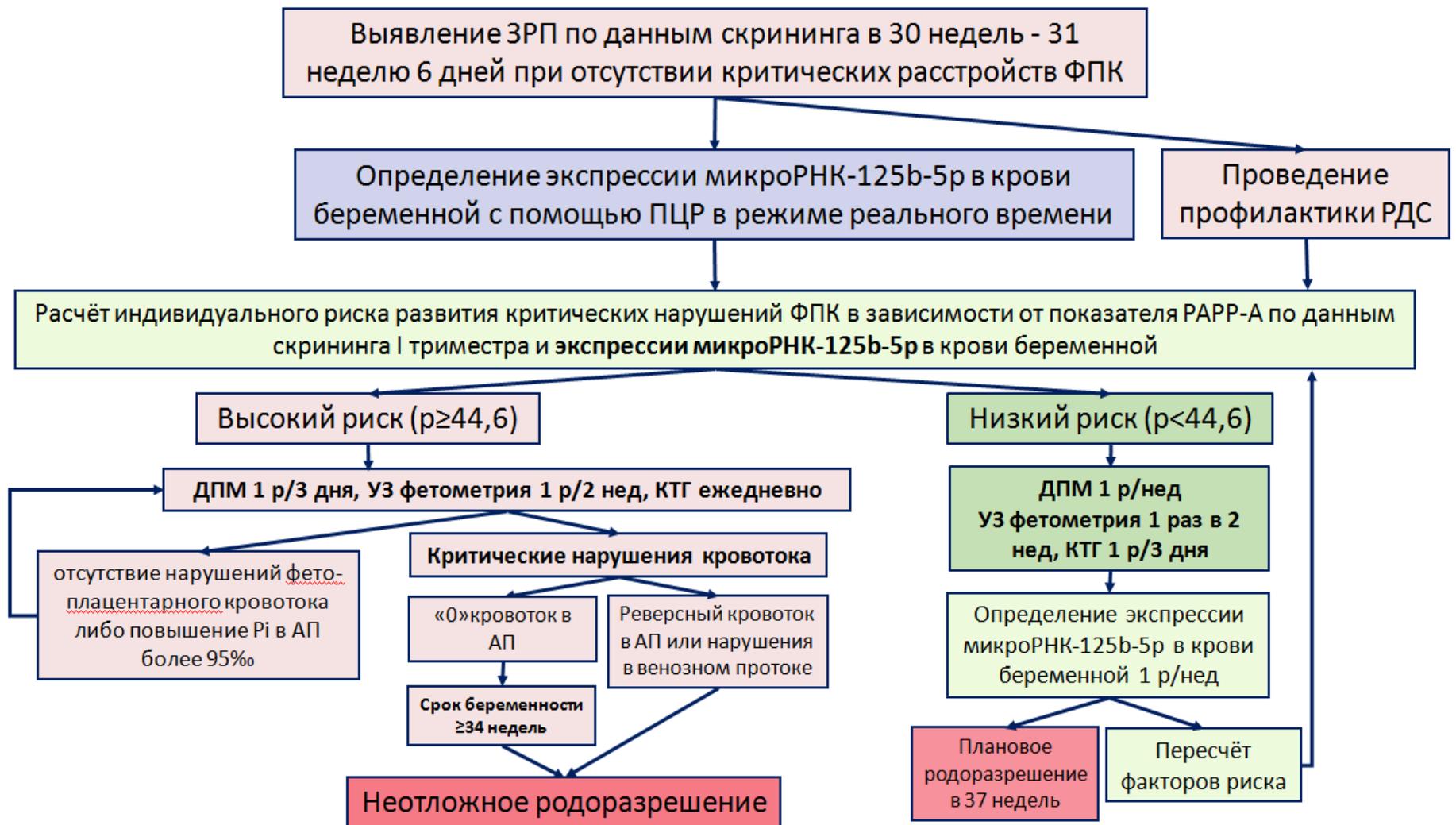
На основании полученных результатов был разработан персонифицированный алгоритм ведения пациенток с ЗРП, диагностированной в 30 недель – 31 неделю 6 дней

(рисунок 5). При выявлении по УЗИ в 30 недель – 31 неделю 6 дней ЗРП при сохраняющемся диастолическом компоненте кровотока в АП и отсутствии признаков критического состояния плода, требующего экстренного родоразрешения, рекомендуется определение экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременной с помощью ПЦР в режиме реального времени, с последующим расчетом индивидуального риска развития критических расстройств ФПК.

Все беременные с ЗРП группы 1 были родоразрешены преждевременно, в среднем в 32,4 недели (30,9; 33,7) (Me (Q1; Q3) в ГБУ РО «ПЦ»).

Неотложное родоразрешение (менее чем через 6 часов) от момента поступления проведено 12 пациенткам (20,3%), в остальных наблюдениях (79,7%) было выполнено отсроченное родоразрешение, позволившее провести профилактику незрелости легких плода дексаметазоном внутримышечно в дозе 8 мг 3 раза с интервалом 8 часов. Оценка новорожденных, перенесших ЗРП, по шкале Апгар на 1-й минуте составила 6,0 (6,0; 7,0) баллов (Me (Q1; Q3), на 5-й минуте также 6,0 (6,0; 7,0) баллов, масса тела при рождении – 1255 (1092,5; 1465) грамм. Длительность пребывания детей в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных составила 14,0 (6,0; 26,0) дней. Умерло в неонатальном периоде пять детей из группы 1 (8,5%), продолжительность жизни составила 21 (13; 25) день.

В результате корреляционного анализа факторов, связанных с анамнезом, течением беременности и родов, ультразвуковыми и доплерометрическими характеристиками беременных, была установлена взаимосвязь неонатальной смерти ребенка, имеющего задержку внутриутробного развития, с низким значением PAPP-A в 12 недель беременности (менее 0,258 MoM) и критическими расстройствами ФПК на момент родоразрешения (Se – 86,8%, Sp – 60%,  $p = 0,012$ ). Критические расстройства плодово-плацентарного кровотока к моменту родоразрешения повышали риск смерти новорожденных в первые 28 суток в 14 раз (ОШ = 14,0, 95%-ный ДИ [1,427–137,324], Se – 80%, Sp – 77,8%,  $p = 0,017$ ).



, где  $p$  – значение регрессионной функции  $p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$  при  $z = -3,77 - 6,48 * X_{PAPP-A} + 0,156 * X_{miR125b}$

Рисунок 5. Индивидуальный алгоритм ведения беременных с задержкой роста плода

Определена корреляция между показателями экспрессии микроРНК и исходами для детей с задержкой внутриутробного развития: выявлена взаимосвязь между экспрессией микроРНК-125b-5p в крови беременной, определенной в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней, и смертностью в неонатальном периоде (слабая прямая корреляционная связь,  $r = 0,326$ ,  $p = 0,012$ ). С помощью ROC-анализа было определено пороговое значение Ct микроРНК-125b-5p в крови (43,1 единицы), позволяющее отнести беременную с ЗРП к группе риска по неонатальной потере и установить для данного показателя Se – 80% и Sp – 66,7%.

С целью оценки предиктивной ценности трех микроРНК: микроРНК-103a-3p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-125b-5p в прогнозе развития ранней ЗРП, клиническое значение которых доказано в ходе первого этапа исследования, был проведен второй этап диссертационного исследования.

Во второй этап исследования включены 100 беременных в сроке 18–21 неделя, выбранные случайным образом при прохождении второго скринингового УЗИ в консультативной поликлинике ГБУ РО «ПЦ».

Всем беременным, вошедшим во второй этап исследования, осуществлялся забор периферической венозной крови и выполнялся анализ крови с помощью ПЦР в режиме реального времени на 16 плацента-специфичных микроРНК. Данные показатели были проанализированы после завершения беременностей у вошедших в исследование пациенток, и дана оценка профилю плацента-специфичных микроРНК в крови в зависимости от наличия или отсутствия у них ранней ЗРП.

Ранняя форма ЗРП диагностирована в дальнейшем, в 30 недель – 31 неделю 6 дней, у семи из 100 проходивших тестирование женщин, которые были включены во второй этап исследования, еще шесть беременных выбыли из наблюдения по причине отказа от дальнейшего участия в исследовании ( $n = 2$ ) либо в связи с преждевременными родами, ассоциированными с преждевременным разрывом плодных оболочек ( $n = 4$ ).

Установлено, что пациентки, чья беременность в дальнейшем осложнилась ранней ЗРП, имели более низкие значения PAPP-A в 12 недель (среди беременных с ЗРП Me PAPP-A составила 0,6 (0,4; 0,7) МоМ, а с нормальным течением беременности – 0,9 (0,6; 1,3) МоМ,  $p = 0,035$ ).

Экспрессия микроРНК-103а-3р ( $p = 0,005$ ), микроРНК-26а-5р ( $p = 0,03$ ) и микроРНК-125b-5р ( $p = 0,021$ ) была ниже у пациенток, у которых впоследствии развилась ЗРП. Ст микроРНК-103а-3р составила 45 (38,1; 45) у беременных с ранней ЗРП и 38,7 (34,4; 41) у женщин с физиологически протекавшей беременностью. Ст микроРНК-26а-5р составила 45 (38,9; 45) у беременных с ранней ЗРП и 38,2 (35,6; 40,5) у женщин с физиологически протекавшей беременностью. Ст микроРНК-125b-5р составила 45 (44; 45) у беременных с ранней ЗРП и 40,1 (35,8; 37) у женщин с физиологически протекавшей беременностью. Методом бинарной логистической регрессии была построена прогностическая модель вероятности развития ЗРП, которая описывается следующим регрессионным уравнением:

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = -7,1 - 0,027X_{miR103} + 0,263X_{miR26} - 0,001X_{miR125}, \quad (2)$$

где  $p$  – прогностический индекс, характеризующий вероятность наличия ЗРП;  $e$  – число Эйлера, математическая константа ( $\approx 2,718$ );  $z$  – коэффициент регрессионной функции;  $X_{miR103}$  = Ст микроРНК-103а-3р;  $X_{miR26}$  = Ст микроРНК-26а-5р;  $X_{miR125}$  = Ст микроРНК-125b-5р.

Пороговое значение функции (2) в точке cut-off составило 76,6. Значения функции, равные или превышающие данное значение, соответствовали высокому риску развития ранней ЗРП ( $Se - 81,5\%$ ,  $Sr - 88,9\%$ , точность способа составила 83,3%). В соответствии с полученной моделью, у беременных в сроке 18-21 неделя можно рассчитать персональный риск развития ранней ЗРП, определив экспрессию микроРНК-125b-5р, микроРНК-26а-5р и микроРНК-103а-3р в крови.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Профиль плацента-специфичных микроРНК в крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделя 6 дней характеризуется низким уровнем экспрессии микроРНК-103а-3р (Ст более 33,4), микроРНК-26а-5р (Ст более 34,6) и микроРНК-125b-5р (Ст более 37,7).

Рассчитана формула прогноза развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока у беременных с ЗРП, включающая PAPP-A по результатам биохимического скрининга в 12 недель и микроРНК-125b-5р в крови беременной в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней.

Расчет индивидуального риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока у беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней, основанный на значении PAPP-A по результатам биохимического скрининга в 12 недель и определении экспрессии микроРНК-125b-5p в крови, позволяет формировать группу высокого риска развития тяжелых нарушений ФПК при превышении значения функции ( $p$ ) более 44,6.

Установлены предикторы неблагоприятных исходов для новорожденных с задержкой внутриутробного развития (смерть в неонатальном периоде): низкий уровень PAPP-A по данным генетического скрининга матери в 12 недель (менее 0,258 МоМ) и низкая экспрессия микроРНК-125b-5p в крови в 30 недель – 31 неделю 6 дней. Экспрессия микроРНК-125b-5p является минимальной при критических расстройствах ФПК, коррелируя со степенью его нарушений.

Проведенное исследование позволило установить эпигенетические предикторы ЗРП в крови беременных в 18–21 неделю, в сроки второго ультразвукового скрининга: низкий уровень экспрессии плацента-специфичных микроРНК: микроРНК-103a-3p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-125b-5p, позволяющие определить беременную в группу риска по развитию ЗРП.

Перспективой дальнейшей разработки темы является поиск наиболее ранних предикторов ЗРП – выявление прогностически значимых микроРНК в 11 недель – 13 недель 6 дней, с целью наиболее раннего формирования группы высокого риска по развитию ЗРП и усовершенствования наблюдения за такими беременными.

#### **Выводы:**

1. Течение беременности пациенток с ранней ЗРП характеризуется уровнем PAPP-A менее 0,637 МоМ в 12 недель, нарушениями маточно-плацентарного кровотока в 18–21 неделю, низким уровнем экспрессии плацента-специфичных микроРНК в крови в 30 недель – 31 неделя 6 дней: микроРНК-103a-3p с уровнем Ct более 33,4, микроРНК-26a-5p с Ct более 34,6 и микроРНК-125b-5p с Ct более 37,7 (показатель Ct является обратно пропорциональным экспрессии микроРНК параметром), при этом уровень экспрессии микроРНК-125b-5p коррелирует с PAPP-A в 12 недель ( $r = -0,415$ ,  $p = 0,014$ ).

2. Уровень экспрессии плацента-специфичных микроРНК у беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней прямо коррелирует с тяжестью нарушений фетоплацентарного кровотока ( $r = 0,667$ ,  $p = 0,005$ ): при критических расстройствах фетоплацентарного

кровотока Me экспрессии микроРНК-125b-5p (Ct) составляет 45; при отсутствии критических нарушений – Me Ct = 40,2.

3. Предиктором летального исхода в неонатальном периоде при ЗРП является экспрессия микроРНК-125b-5p с уровнем Ct более 43,1 единицы ( $r = 0,326$ ,  $p = 0,012$ ) в крови беременных в 30 недель – 31 неделю 6 дней.

4. Определение экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней позволяет рассчитать индивидуальный риск развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока: при превышении значения функции ( $p$ ) более 44,6 беременную следует отнести к группе высокого риска развития тяжелых нарушений ФПК.

5. Расчет индивидуального риска развития ранней ЗРП, основанный на определении экспрессии микроРНК-125b-5p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-103a-3p в крови беременных, позволяет выделить группу риска развития данного осложнения при превышении значения функции ( $p$ ) более 76,6.

#### **Практические рекомендации:**

1. В обследование беременных в сроке 18–21 неделя (соответствует срокам второго ультразвукового скрининга) следует включить определение в венозной крови методом количественной ПЦР в режиме реального времени трех плацента-специфичных микроРНК: микроРНК-103a-3p, микроРНК-26a-5p, микроРНК-125b-5p – с целью формирования среди беременных группы высокого риска по развитию ранней ЗРП.

2. С целью определения тактики ведения беременности, осложненной ЗРП в сроки 30 недель – 31 неделя 6 дней, при отсутствии неотложных показаний для родоразрешения необходимо определение экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных методом ПЦР в режиме реального времени и расчет индивидуального риска развития критических расстройств ФПК с помощью многофакторной прогностической модели, учитывающей показатель RAPP-A по данным скрининга в 12 недель и уровень экспрессии микроРНК-125b-5p в крови в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней.

3. Пациенткам с ЗРП в сроке гестации 30 недель – 31 неделя 6 дней следует применять персонифицированный алгоритм наблюдения, который позволяет на основании многофакторной прогностической модели индивидуализировать акушерскую тактику у беременных с ЗРП с учетом риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока. Для облегчения расчета риска развития критических

расстройств плодово-плацентарного кровотока целесообразно применять компьютерную программу, учитывающую экспрессию микроРНК-125b-5p (Ст) в крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней и показатель PAPP-A (MoM) в 11 недель – 13 недель 6 дней. Пациенткам с высоким риском усугубления нарушений ФПК необходима маршрутизация в учреждение родовспоможения третьей группы для мониторинга состояния плода с целью раннего выявления показаний для родоразрешения в соответствии со сроком беременности.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ранний прогноз перинатальных осложнений у беременных с задержкой внутриутробного развития / М.А. Гали, А.С. Калашникова, **Е.А. Забанова**, Н.Б. Кузнецова // Сборник материалов 72 Итоговой научной конференции Ростовского государственного медицинского университета. – 2018. – С. 185-186.

2. Prediction of adverse perinatal outcomes in neonates with intrauterine growth restriction / **E Zabanova**, I Bushtyreva, N Kuznetsova, E Butenko // International Journal of Gynecology & Obstetrics. Abstracts of the XXII FIGO World Congress of Gynecology & Obstetrics. – 2018. – Vol.143, Supp.3. – FCS095. – С. 196.

3. Анализ показателей биохимического скрининга и доплерометрии маточных артерий в 1 и 2 триместре у беременных с задержкой роста плода / **Е.А. Забанова**, Г.М. Ильясова, Н.Б. Кузнецова // Сборник материалов 6 Итоговой научной сессии Ростовского государственного медицинского университета. – 2019. – С. 40-42.

4. Prediction of intrauterine growth retardation – from screening to epigenetics / I Bushtyreva, N Kuznetsova, **E Zabanova**, T Shkurat, E Butenko // Abstracts of the 2nd World Congress on Maternal Fetal Neonatal Medicine, London, United Kingdom, 04-06.04.2019. Poster presentations. – ID213.

5. МикроРНК регуляция в генезе задержки роста плода / **Е.А. Забанова**, Н.Б. Кузнецова, Т.П. Шкурят, Е.В. Бутенко // **Акушерство и гинекология**. – 2019. – Т.12. – С. 5-11.

6. Прогностическая значимость критических нарушений фето-плацентарного кровотока у беременных с задержкой роста плода / **Е.А. Забанова**, Н.Б. Кузнецова, А.В. Буштырев, М.Н. Уманский // Сборник материалов XIV Международного конгресса по репродуктивной медицине. – 21-24 января 2020, г. Москва. – С. 174-1753.

7. Прогностическая значимость критических нарушений фетоплацентарного

кровотока у беременных с задержкой роста плода / Кузнецова Н.Б., Буштырева И.О., **Забанова Е.А.**, Барина В.В., Гугуева А.В. // **Акушерство и гинекология.** – 2020. – Т.6. – С. 59-64.

8. Экспрессия плацента-специфичных микроРНК при задержке роста плода / **Забанова Е.А.**, Кузнецова Н.Б., Буштырева И.О., Бутенко Е.В., Шкурят Т.П., Покудина И.О. // Сборник материалов XXI Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и дитя-2020». Москва, 28-30 сентября 2020. – С.14.

9. Пат 2738674 РФ. Способ прогнозирования задержки роста плода / Н.Б. Кузнецова, **Е.А. Забанова**, И.О. Буштырева, Т.П. Шкурят, Е.В. Бутенко – № 2020117074; заявл. 12.05.2020; опубл. 15.12.2020, Бюл. №35.–7 с.

10. Экспрессия плацента-специфичных микроРНК при задержке роста плода / Буштырева И.О., Кузнецова Н.Б., **Забанова Е.А.**, Бутенко Е.В., Покудина И.О., Шкурят Т.П. // **Акушерство и гинекология.** – 2021. – Т.2. – С. 128-134

11. Maternal energy metabolism and angiogenesis genes polymorphisms in fetal growth restriction / I.A. Novikova, D. Alset, T.P. Shkurat, I.O. Pokudina, E.V. Butenko, **Е.А. Zabanova**, N.V. Kuznetsova // **Gene Reports.** – 2021. – Vol.23. – 101170.

12. Исследование роли микроРНК-регуляторов клеточного цикла в генезе задержки развития плода / Пагуай Салкан А., Мироненко А.Д., Покудина И.О., Бутенко Е.В., **Забанова Е.А.**, Кузнецова Н.Б. // Сборник трудов X Юбилейной международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика». Москва, 9-11 ноября 2021. – Т.1. – С. 388.

13. Полиморфизмы в генах AGT, VEGFA и MTHFR у женщин с задержкой развития плода / Алсет Дема, Новикова И.А., Бутенко Е. В., Покудина И.О., **Забанова Е.А.**, Кузнецова Н.Б. // Сборник трудов X Юбилейной международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика». Москва, 9-11 ноября 2021. – Т.1. – С. 389-390.

14. База данных, свидетельство о государственной регистрации № 2020622675. Полиморфизмы генов энергетического обмена, воспаления и системы гемостаза у здоровых женщин и с задержкой развития плода / Бутенко Е.В., Шкурят Т.П., Покудина И.О., Машкина Е.В., Новикова И.А., **Забанова Е.А.**, Кузнецова Н.Б. – заявка № 2020622485; заявл. 03.12.2020; регистр. 16.12.2020.