

УДК 618.3:611.013.8]-06-005.6:57.088.7:575.113

М.І. Ющенко, Ю.М. Дука

## Оцінка генетичної схильності до виникнення плацента-асоційованих ускладнень у вагітних з ретрохоріальними гематомами в I триместрі вагітності

Дніпровський державний медичний університет, Україна

Ukrainian Journal of Perinatology and Pediatrics. 2023. 1(93): 12-18; doi 10.15574/PP.2023.93.12

**For citation:** Yushchenko MI, Duka YuM. (2023). Assessment of genetic susceptibility to the occurrence of placenta-associated complications in pregnant women with retrochorial hematomas in the trimester I of pregnancy. Ukrainian Journal of Perinatology and Pediatrics. 1(93): 12-18. doi: 10.15574/PP.2023.93.12.

**Мета** — визначити наявність генетичної детермінованості з боку генів-кандидатів тромбофілії та ангіогенезу, їхню прогностичну цінність у розвитку преєклампсії (ПЕ) у жінок із ретрохоріальною гематомою (РХГ).

**Матеріали та методи.** Проаналізовано перебіг вагітності у 137 жінок із загрозою її невиношування віком від 20 до 47 років (I група — 60 пацієнток із РХГ, II група — 77 пацієнток без гематом). Додатково проведено дослідження поліморфізму генів тромбофілії, гена фактора росту ендотелію судин А (VEGF-A -634 C>G) та гена синтази окису азоту 3 (NOS3 -786 C>T). Для оцінювання кореляційних залежностей визначено показник співвідношення водорозчинна тирозинкіназа-1 (sFlt-1) / плацентарний фактор росту (PIGF) (sFlt-1/PIGF) за допомогою TRACE-technologie (BRAHSMS Kryptor).

**Результати.** Середній вік жінок I групи становив 31,2±0,6 (95% ДІ: 30,0–32,4) року, II групи — 32,2±0,6 (95% ДІ: 31,0–33,3) року ( $p=0,243$  за  $t$ -критерієм). Розрахунок ризику розвитку ПЕ в жінок обох груп показав високий ризик її розвитку у 28 (46,7%) і 23 (29,9%) випадках, відповідно ( $p=0,044$  за  $\chi^2$ ). Виявлено значущі кореляційні залежності в парах: поліморфізми гена F13A1 (9 G>T) — зниження рівня PIGF ( $r_s=-0,296$ ;  $p=0,023$ ) і підвищення значення sFlt-1/PIGF в 32–33<sup>+6</sup> тижні ( $r_s=0,248$ ;  $p=0,050$ ); гена FGB-фібриногену (455 G>A) — наявність у вагітної хронічної артеріальної гіпертензії (ХАГ) ( $r_s=0,260$ ;  $p=0,002$ ), підвищений ризик розвитку ПЕ в I триместрі ( $r_s=0,180$ ;  $p=0,038$ ); гена PAI-1 — знижений рівень sFlt-1 ( $r_s=-0,331$ ;  $p=0,010$ ) і sFlt-1/PIGF у 32–33<sup>+6</sup> тижні ( $r_s=-0,310$ ;  $p=0,015$ ); гена ITGB3- $\beta$  — наявність у вагітної ХАГ ( $r_s=0,176$ ;  $p=0,040$ ), збільшення sFlt-1/PIGF ( $r_s=0,221$ ;  $p=0,087$ ). Відзначено тенденцію до підвищення ризику розвитку ПЕ в I триместрі в носіїв поліморфізму гена VEGF-A (-634 C>G) ( $r_s=0,226$ ;  $p=0,083$ ). Поліморфізм гена NOS3 асоціювався з підвищенням sFlt-1 ( $r_s=0,252$ ;  $p=0,063$ ) і співвідношення sFlt-1/PIGF в 32–33<sup>+6</sup> тижні ( $r_s=0,239$ ;  $p=0,079$ ).

**Висновки.** Розрахунок ризику розвитку ПЕ в жінок з РХГ свідчить про високий ризик її розвитку. Наявність поліморфізмів VEGF-A (-634 C>G) призводить до формування підвищеного ризику розвитку ПЕ та інших плацента-асоційованих ускладнень. Наявність поліморфізму гена NOS3 (-786 C>T) впливає на рівень sFlt-1, призводячи до його підвищення та зміни рівня співвідношення sFlt-1/PIGF в 32–33<sup>+6</sup> тижні, яке свідчить про підвищений ризик розвитку пізньої ПЕ. Найкращу передбачувану цінність має поєднання вивчення не тільки клінічних даних і біохімічних параметрів, але й генетичної детермінованості.

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення досліджень отримано інформовану згоду жінок.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Ключові слова:** ретрохоріальна гематома, генетичні поліморфізми, тромбофілія, ангіогенез, преєклампсія, стратифікація ризику, плацентарна дисфункція, плацентарний фактор росту, водорозчинна тирозинкіназа-1, співвідношення sFlt/PIGF.

### Assessment of genetic susceptibility to the occurrence of placenta-associated complications in pregnant women with retrochorial hematomas in the trimester I of pregnancy

M.I. Yushchenko, Yu.M. Duka

Dnipro State Medical University, Ukraine

**Purpose** — to determine the presence of genetic determinism on the part of thrombophilia and angiogenesis candidate genes, their prognostic value in the development of preeclampsia (PE) in women with retrochorial hematoma (RCH).

**Materials and methods.** The course of pregnancy was analyzed in 137 women with the threat of miscarriage aged 20 to 47 years (the Group 1 — 60 patients with RCH, the Group 2 — 77 patients without hematoma). Additionally, polymorphisms of the thrombophilia genes, the vascular endothelial growth factor gene — A (VEGF-A-634C>G) and the nitric oxide synthase 3 gene (NOS3 -786 C>T) were studied. To assess the correlation dependencies, the water-soluble tyrosine kinase-1 (sFlt-1) / placental growth factor (PIGF) (sFlt-1/PIGF) ratio was determined using TRACE-technologie (BRAHSMS Kryptor).

**Results.** The average age of women in the Group 1 was 31.2±0.6 (95% CI: 30.0–32.4) years, in the Group 2 was 32.2±0.6 (95% CI: 31.0–33.3) years ( $p=0.243$  by  $t$ -criterion). The calculation of the risk of developing PE in women of both groups established a high risk of its development in 28 (46.7%) and 23 (29.9%), respectively ( $p=0.044$  by  $\chi^2$ ). Significant correlations in pairs were revealed: F13A1 gene polymorphism (9 G>T) — a decrease in the level of PIGF ( $r_s=-0.296$ ;  $p=0.023$ ) and an increase in the value of sFlt-1/PIGF at 32–33<sup>+6</sup> weeks ( $r_s=0.248$ ;  $p=0.050$ ); FGB-fibrinogen gene (455 G>A) — the presence of chronic arterial hypertension (CAH) in a pregnant woman ( $r_s=0.260$ ,  $p=0.002$ ), an increased risk of developing PE in the trimester I ( $r_s=0.180$ ;  $p=0.038$ ); PAI-1 gene — reduced level of sFlt-1 ( $r_s=-0.331$ ;  $p=0.010$ ) and sFlt-1/PIGF at 32–33<sup>+6</sup> weeks ( $r_s=-0.310$ ;  $p=0.015$ ); ITGB3- $\beta$  gene — the presence of CAH in a pregnant woman ( $r_s=0.176$ ;  $p=0.040$ ), an increase in sFlt-1/PIGF ( $r_s=0.221$ ;  $p=0.087$ ). There was a trend towards an increased risk of developing PE in the first trimester in carriers of the VEGF-A

gene polymorphism (-634 C>G) ( $r_s=0.226$ ;  $p=0.083$ ). NOS3 gene polymorphism was associated with increased sFlt-1 ( $r_s=0.252$ ;  $p=0.063$ ) and sFlt-1/PlGF ratio at 32–33<sup>+6</sup> weeks ( $r_s=0.239$ ;  $p=0.079$ ).

**Conclusions.** Calculation of the risk of developing PE in women with RCH found a high risk of its development. The presence of VEGF-A polymorphism (-634 C>G) leads to an increased risk of developing PE and other placenta-associated complications. The presence of the NOS3 gene polymorphism (-786 C>T) affects the level of sFlt-1, leading to its increase and a change in the level of the sFlt-1/PlGF ratio at 32–33<sup>+6</sup> weeks, which indicates an increased risk of developing late PE. The best predictor value has a combination of studying not only clinical data and biochemical parameters, but also genetic determinism.

The research was carried out in accordance with the principles of the Helsinki Declaration. The study protocol was approved by the Local Ethics Committee of the participating institution. The informed consent of the patient was obtained for conducting the studies.

No conflict of interests was declared by the authors.

**Keywords:** retrochorial hematoma, genetic polymorphisms, thrombophilia, angiogenesis, pre-eclampsia, risk stratification, placental dysfunction, placental growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase 1, sFlt/PlGF ratio.

## Вступ

Формування ретрохоріальної гематоми (РХГ) у I триместрі вагітності, навіть за успішного лікування цієї патології, призводить до підвищеного ризику формування плацентарної дисфункції. Наявність РХГ підвищує ризик викидня, мертвородження, відшарування плаценти та передчасних пологів майже до 50%. У разі збереження вагітності в цих жінок спостерігається вищий ризик розвитку материнських і неонатальних ускладнень, насамперед таких, як преєклампсія (ПЕ) і синдром затримки росту плода (ЗРП). Неповна інвазія трофобласта веде до зміни плацентарного ангиогенезу і відіграє значну роль у формуванні ПЕ, частота якої не має тенденції до зниження, незважаючи на запропоновані методи профілактики і багаторазові спроби підбирання терапії.

Протягом останніх 20 років учені різних країн світу шукають генетичну обумовленість розвитку ПЕ. Хоча сама по собі генетична модель розвитку ПЕ руйнує класичну дво- або триступеневу, перетворюючи її на чотири- і шестиступінчасту модель. Саме в таких моделях основну роль розвитку ПЕ відіграють генетичні та імунні фактори. Сімейний анамнез і гіпертонічні розлади підвищують ризик розвитку ПЕ, маючи на увазі, що генетичні компоненти також змінюють рівень ризику ПЕ.

Преєклампсія є полігенним розладом, і хоча жодний генетичний варіант не вважається відповідальним для всіх випадків ПЕ, окремі локуси, фактори навколишнього середовища і епістаз є компонентами, якими не слід нехтувати. У цьому сенсі оцінка генетичних варіантів ризику ПЕ мала б велике значення для формування груп ризику і поліпшення спостереження за вагітними жінками на амбулаторному етапі [2,3,5,9].

**Мета** дослідження — визначити наявність генетичної детермінованості з боку генів-кан-

дидатів тромбофілії та ангиогенезу, їхню прогностичну цінність у розвитку ПЕ в жінок із РХГ.

## Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи кафедри акушерства, гінекології та перинатології факультету післядипломної освіти Дніпровського державного медичного університету: «Діагностика та превентивне лікування акушерських та гінекологічних захворювань при екстрагенітальній патології» (№ державної реєстрації 0120U101467, термін виконання — 2020–2023 рр.). Дисертаційну роботу виконано відповідно до основних положень GCP ICH і Гельсінської декларації, з використанням системного підходу до комплексу досліджень, проведених у вагітних жінок, визначеною окресленою метою й конкретними завданнями. Обстеження вагітних жінок було повністю добровільним, можливість проведення якого виконано згідно з вимогами біомедичного комітету Дніпровського державного медичного університету та з дотриманням основних положень протоколів Наказів Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України від 15.07.2011 № 417 «Методичні рекомендації щодо організації надання амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги» і від 03.11.2008 № 624 «Невиношування вагітності». Дослідження проведено протягом 2020–2021 рр.

Для досягнення поставленої мети роботи на базі відділення медицини плода КЗ «Дніпропетровський обласний центр зі стаціонаром «Дніпропетровської обласної ради» (нині — КП «Регіональний медичний центр родинного здоров'я») відібрано 137 жінок із загрозою невиношування вагітності віком від 20 до 47 років на підставі наявності в них симптомів загрози переривання вагітності, регламентованих

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Наказом МОЗ України від 03.11.2008 № 624 «Невиношування вагітності». Пацієнток поділено на групи проспективного дослідження. Клінічну I групу (група з підтвердженою РХГ) становили 60 жінок, середній вік яких дорівнював  $31,2 \pm 0,6$  (95% ДІ: 30,0–32,4) року; II групу (загроза невиношування без РХГ) – 77 пацієнток віком  $32,2 \pm 0,6$  (95% ДІ: 31,0–33,3) року. Обидві групи були статистично зіставними за віком жінок ( $p=0,243$  за *t*-критерієм). Обсяг гематоми (Vг) у пацієнток I групи в 19 (31,7%) випадках перебільшував 30% хоріона, у 41 (68,3%) жінки коливався в межах 10–15%.

Окрім досліджень, регламентованих вищезазначеними наказами МОЗ України № 417 і № 624, у розширеному обсязі, за індивідуальною згодою жінки, проведено дослідження 8 генетичних варіантів поліморфізму генів тромбофілії. Окрім того, у 37 (61,7%) і 26 (33,8%) жінок відповідно I і II груп визначено поліморфізм двох генів, що відповідають за ангиогенез (ген фактора росту ендотелію судин А (VEGF-A -634C>G) та мутація-1 синтази окису азоту 3 (NOS3 -786 C>T)) методом полімеразно-ланцюгової реакції з використанням комплекту реагентів «SNP-експрес» виробництва НПФ «Літех». Геномну ДНК виділено з лейкоцитів цільної крові за допомогою реагента «ДНК-експрес-кров» (НПФ «Літех»). Для зручності розрахунків кожний геном – гомозигота за алеллю 1 (нормальна гомозигота), гетерозигота і гомозигота за алеллю 2 (патологічна гомозигота) – кодували цифрами 0, 1, 2, відповідно.

Ультразвукове дослідження (УЗД) проведено на сканері «Samsung Hera I 10» із застосуванням датчиків 3,5 Мгц і 7,5 Мгц. Під час проведення УЗД обов'язковим було виконання доплерометрії маткових артерій із визначенням їхніх пульсаційних індексів (ПІ). У дослідженні використано модель ASPRE, в основі якої лежить програма комбінованого скринінгу в першому триместрі з визначенням біохімічних пренатальних маркерів (плацентарний фактор росту (PlGF і/або протеїн, асоційований із вагітністю-А (PAPP-A)), а також із розрахунком перинатального ризику ПЕ за допомогою калькулятора Fetal medicine foundation (FMF) «Preeclampsia risk assessment first and second trimester». Крім того, для оцінювання кореляційних залежностей між генетичною детермінованістю та рівнем продукції PlGF у терміні гестації 19–23<sup>+6</sup> тижні і 32–33<sup>+6</sup> тижні визначено співвідношення водорозчинна тирозинкіназа-1

(sFlt-1) / PlGF (sFlt-1/PlGF) за допомогою TRACE-technologie (BRAHSMS Kryptor).

Статистичну обробку матеріалів дослідження проведено з використанням методів біостатистики, реалізованих у пакеті програм «Statistica v.6.1» (серійний номер AGAR909E415822FA). Для опису і порівняння статистичних характеристик кількісних даних, розподілених за нормальним законом (перевірка за критерієм Шапіро–Уїлка), використано середню арифметичну (M), її стандартну похибку (m) та 95% довірчий інтервал (95% ДІ), *t*-критерій Стьюдента для незв'язаних вибірок з урахуванням однорідності дисперсій (критерій Фішера); при аномальному законі розподілу даних – медіану (Me) з інтерквартильним розмахом (25%; 75%) та *U*-критерій Манна–Уїтні (*U*). Порівняння відносних показників проведено за критерієм Хі-квадрат Пірсона ( $\chi^2$ ) і двостороннім точним критерієм Фішера (FET). Взаємозв'язок між категоріальними ознаками оцінено за коефіцієнтом кореляції Крамера ( $r_v$ ), для кількісних ознак і змішаних випадків – за коефіцієнтом рангової кореляції Спірмена ( $r_s$ ). Критичний рівень статистичної значущості результатів досліджень (*p*) прийнято  $\leq 0,05$ , при  $p < 0,10$  визначено тенденцію.

### Результати дослідження та їх обговорення

Середній гестаційний вік на момент взяття на облік дорівнював  $6,1 \pm 0,55$  (95% ДІ: 5,0–7,2) тижня в I групі та  $7,2 \pm 0,61$  (95% ДІ: 6,0–8,4) тижня у II групі ( $p=0,192$  за *t*-критерієм), тобто групи були статистично порівнянними за цими показниками ( $p > 0,05$ ).

Не виявлено достовірних відмінностей між групами як за паритетом вагітності: 3 (2; 3) вагітності у I групі проти 2 (1; 4) вагітності у II групі ( $p=0,616$  за *U*-критерієм); так і за паритетом майбутніх пологів – 0 (0; 1) проти 0 (0; 1) відповідно за групами ( $p=0,214$  за *U*).

Переривання вагітності до 12 тижнів в анамнезі мали 33 (55,0%) пацієнтки в групі I та 43 (55,8%) – у II групі ( $p=0,921$  за  $\chi^2$ ), з них по типу missed – 16 (26,7%) і 28 (36,3%) жінок відповідно по групах; по типу повного мимовільного викидня до 5 тижнів – 17 (28,3%) і 15 (19,5%) жінок. Втрати попередніх вагітностей в терміні гестації після 12 тижнів до 21 тижня<sup>+6</sup> відмічалися у 3 (5,0%) вагітних у I групі та 11 (14,3%) – у II групі ( $p=0,075$  за  $\chi^2$ ). Антенатальна загибель плода, обумовлена хронічною плацентарною дисфункцією, спостерігалася в 6 (10,0%) жінок у I групі в 36–39 тижнів геста-

Таблиця 1

## Характеристика виявлених поліморфізмів генів тромбофілії, абс. (%)

Ген	Поліморфізм	Результат	I група (n=60)	II група (n=77)	Між групами
F <sub>2</sub> -протромбін (фактор II згортання)	F2: 20210 G>A	0	58 (96,7)	73 (94,8)	$p_{\chi^2}=0,663$ ; $r_v=0,077$
		1	2 (3,3)	3 (3,9)	
		2	–	1 (1,3)	
F <sub>5</sub> -Лейден (фактор V згортання)	F5: 1691 G>A	0	58 (96,7)	73 (94,8)	$p_{\chi^2}=0,294$ ; $r_v=0,134$
		1	1 (1,7)	4 (5,2)	
		2	1 (1,7)	–	
F <sub>7</sub> (фактор VII згортання)	F7: 10976 G>A	0	48 (80,0)	61 (79,2)	$p_{\chi^2}=0,911$ ; $r_v=0,010$
		1	12 (20,0)	16 (20,8)	
		2	–	–	
F <sub>13A1</sub> (фактор XIII згортання)	F <sub>13A1</sub> : 9 G>T	0	36 (60,0)	52 (67,5)	$p_{\chi^2}=0,222$ ; $r_v=0,148$
		1	20 (33,3)	24 (31,2)	
		2	4 (6,7)	1 (1,3)	
FGB-фібриноген (фактор I згортання)	FGB: -455 G>A	0	30 (50,0)	37 (48,0)	$p_{\chi^2}=0,864$ ; $r_v=0,046$
		1	28 (46,7)	36 (46,8)	
		2	2 (3,3)	4 (5,2)	
Серпін 1 (PAI-1) антагоніст тканинного активатора плазміногену	PAI: -675 5G>4G	0	11 (18,3)	17 (22,1)	$p_{\chi^2}=0,477$ ; $r_v=0,104$
		1	28 (46,7)	28 (36,4)	
		2	21 (35,0)	32 (41,5)	
ITGA2- $\alpha_2$ інтегрин (тромбоцитарний рецептор до колагену)	ITGA2- $\alpha_2$ : 807 C>T	0	52 (86,7)*	55 (71,4)*	$p_{\chi^2}=0,074$ ; $r_v=0,195$
		1	8 (13,3)	20 (26,0)	
		2	–	2 (2,6)	
ITGB3- $\beta$ (тромбоцитарний рецептор фібриногену)	ITGB3- $\beta$ : 1565 T>C	0	40 (66,7)	47 (61,0)	$p_{\chi^2}=0,193$ ; $r_v=0,155$
		1	20 (33,3)	26 (33,8)	
		2	–	4 (5,2)	

Примітки:  $p_{\chi^2}$  — рівень значущості відмінностей розподілу показників між групами в цілому за критерієм  $\chi^2$ ;  $r_v$  — коефіцієнт кореляції Крамера;

\* —  $p < 0,05$  між показниками за критерієм  $\chi^2$ .

ції та 4 (5,2%) — у II групі в терміні 34–37 тижнів ( $p=0,283$  за  $\chi^2$ ). У I групі ПЕ середнього ступеня відмічалася в анамнезі в 1 (1,7%) випадку та в 2 (2,6%) випадках — тяжкого ступеня. У II клінічній групі ПЕ середнього ступеня зустрічалася в анамнезі у 2 (2,6%) випадках. ЗРП при попередній вагітності виявлялася в 5 (8,3%) випадках у I групі проти 3 (3,9%) — у II групі ( $p=0,272$  за  $\chi^2$ ).

Вагітність настала з використанням допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) у 9 (15,0%) жінок у I групі та у 20 (26,0%) — у II групі ( $p=0,119$  за  $\chi^2$ ).

Середній рівень PAPP-A становив 1,04 (0,69; 1,56) МоМ і 0,96 (0,63; 1,40) МоМ відповідно по групах ( $p=0,292$  за U). Значення PAPP-A  $< 0,45$  МоМ виявлялося у 3 (5,0%) пацієнток у I групі, причому в 1 (1,7%) випадку йшлося про зниження рівня до 0,15 МоМ. У II групі подібне зниження спостерігалось у 6 (7,8%) пацієнток ( $p=0,513$  за  $\chi^2$ ). Рівень PlGF в 11 тижнів гестації становив 0,73 (0,56; 0,93) МоМ і 0,75 (0,60; 1,03) МоМ відповідно

у I і II групах без достовірних відмінностей між показниками ( $p=0,279$  за U). Водночас після розрахунку ризику розвитку ПЕ в жінок тематичних груп відмічався високий ризик її розвитку у 28 (46,7%) жінок у I групі проти 23 (29,9%) — у II групі ( $p=0,044$  за  $\chi^2$ ). Це свідчило на користь того, що виникнення РХГ на етапі ранньої плацентарної дисфункції підвищує ризики розвитку плацентарної дисфункції та акушерських ускладнень, пов'язаних із нею.

Результати дослідження поліморфізму генів тромбофілії наведено в таблиці 1.

За даними таблиці 1, мутації в генах F<sub>2</sub>-протромбін (20210 G>A) і F<sub>5</sub>-Лейден (1691 G>A) у досліджених жінок відмічалася менше ніж у 5% випадків (по 6 із 137 випадків — 4,4%), незалежно від клінічної групи ( $p > 0,05$  між групами). Водночас із такими мутаціями асоціювався низький ризик розвитку ПЕ —  $r_s = -0,212$ ;  $p = 0,014$  і  $r_s = -0,188$ ;  $p = 0,030$ , відповідно. Отримані нами дані відрізняються від результатів робіт інших авторів [8]. Цей факт можна пояснити малою кількістю виявлення випадків полімор-

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

фізму в жінок тематичних груп, а також фактом досить позитивних наслідків вагітностей у цих жінок на тлі індивідуалізації лікувального протоколу в цих пацієнток.

Гетерозиготний поліморфізм гена тромбофілії F<sub>7</sub> (10976 G>A) спостерігався у 12 (20,0%) і 16 (20,8%) жінок у I і II групах (p=0,911 за  $\chi^2$ ), який прямо корелював з випадками раннього (до 12 тижнів) переривання вагітності —  $r_s=0,272$ ; p=0,001.

Аналіз поліморфізму гена F<sub>13A1</sub> (9 G>T) виявив гетерозиготні мутації в третини вагітних у I (33,2%) і II (31,2%) групах, гомозиготні за алеллю 2 — у 6,7% і 1,3% випадків, без достовірних відмінностей між групами (p=0,222 за  $\chi^2$ ). Проте в носіїв поліморфізму цього гена відзначалося зниження рівня плацентарного фактора росту ( $r_s=-0,296$ ; p=0,023) з відповідним підвищенням значень співвідношення sFlt-1/PlGF у терміні гестації 32–33<sup>+6</sup> тижні ( $r_s=0,248$ ; p=0,050).

Нами не виявлено статистично значущої залежності мутацій у гені FGB-фібриногену (455 G>A) від наявності у вагітних жінок РХГ: гетерозиготні поліморфізми і патологічні гомозиготи визначено в половині жінок груп дослідження (50,0% і 52,0%) за p=0,864. Водночас цей генетичний поліморфізм достовірно асоціювався з втратами вагітності в ранні терміни ( $r_s=0,194$ ; p=0,023), невдачами запліднення з використанням ДРТ ( $r_s=0,170$ ; p=0,047), підвищеним індексом маси тіла ( $r_s=0,171$ ; p=0,045), а також з наявністю у вагітної хронічної артеріальної гіпертензії ( $r_s=0,260$ ; p=0,002) і, відповідно, з підвищеним ризиком розвитку ПЕ в I триместрі ( $r_s=0,180$ ; p=0,038).

Виявлені поліморфізми гена Серпін-1 (PAI-1) — антагоніста тканинного активатора плазміногену, корелювали з невиношуванням вагітності в анамнезі ( $r_s=0,181$ ; p=0,034), підвищеним рівнем вільного естріолу (нг/мл) у II триместрі ( $r_s=0,208$ ; p=0,017), але зі зниженим рівнем sFlt-1 ( $r_s=-0,331$ ; p=0,010) і співвідношення sFlt-1/PlGF у терміні 32–33<sup>+6</sup> тижні гестації ( $r_s=-0,310$ ; p=0,015), що співпадало з результатами наукових досліджень [1] і свідчило на користь того, що наявність поліморфізму гена PAI-1 впливає на виникнення саме втрат вагітності в I триместрі та на етапі передімплантаційних втрат, але не призводить до підвищення ризиків розвитку плацента-асоційованих ускладнень.

Поліморфізми гена ITGA2- $\chi^2$  інтегрин (807 C>T), які свідчать про генетичну схиль-

ність до раннього тромбоемболізму, частіше відмічалися у вагітних II клінічної групи — 22 (28,6%) проти 8 (13,3%) випадків у I групі (p=0,032 за  $\chi^2$ ). Виявлені поліморфізми асоціювалися з попередніми невдачами ДРТ ( $r_s=0,223$ ; p=0,009) і віком вагітної ( $r_s=0,168$ ; p=0,050).

Дослідження генетичних поліморфізмів гена ITGB3- $\beta$  — тромбоцитарного рецептора фібриногену, не виявило статистично значущих відмінностей між виділеними клінічними групами (p=0,193 за  $\chi^2$ ): гетерозиготні поліморфізми і патологічні гомозиготи визначалися у 20 (33,3%) вагітних у I групі і 30 (39,0%) жінок у II групі. Подібні мутації свідчать про генетичну схильність до переривання вагітності в ранні терміни ( $r_s=0,173$ ; p=0,043). Крім того, встановлено кореляцію між поліморфізмом гена ITGB3- $\beta$  і наявністю у вагітної хронічної артеріальної гіпертензії ( $r_s=0,176$ ; p=0,040) і тенденцію до зниження показника PlGF в 32–33<sup>+6</sup> тижні вагітності ( $r_s=-0,231$ ; p=0,079) і відповідного збільшення співвідношення sFlt-1/PlGF ( $r_s=0,221$ ; p=0,087). Ці дані є досить цікавими для дослідження в подальшому. Адже саме поліморфізми цього гена призводять до генетично обумовленої аспіринорезистентності. Наявність цих поліморфізмів повинна бути врахована в разі призначення, за необхідності, ацетилсаліцилової кислоти в різних дозуваннях для попередження виникнення гіпертензивних розладів під час вагітності. Отримані нами дані ще раз доводять необхідність персоналізованого підходу до розроблення протоколу профілактики та лікування вагітних жінок із ризиком розвитку ПЕ.

Плацентарний кровообіг є динамічною мережею кровоносних судин, яка під час вагітності змінюється відповідно до потреб плода, що росте. Плацентарний ангиогенез (процес утворення нових кровоносних судин в органі або тканині, у процесі якого відбувається реорганізація капілярної мережі) ретельно регулюється шляхом балансу між проангіогенними та антиангіогенними факторами, які можуть виступати як біомаркери розвитку плацента-асоційованих ускладнень. Порушення кровопостачання та харчування призводить до ішемії плаценти, що сприяє вивільненню різних факторів плаценти і про- та антиангіогенних факторів [3–5].

Проангіогенні фактори представлені VEGF і PlGF, які стимулюють зростання судин і беруть участь у формуванні плацентарного кровообігу.

Родина VEGF відіграє ключову роль під час перебігу нормальної вагітності, має своє зна-

Таблиця 2

## Характеристика виявлених поліморфізмів генів ангіогенезу, абс. (%)

Ген	Поліморфізм	Результат	I група (n=37)	II група (n=26)	Між групами
Ген фактора росту ендотелію судин А	VEGF-A (-634 C>G)	0	4 (10,8)	1 (3,9)	$p_{\chi^2}=0,532$ ; $r_v=0,142$
		1	14 (37,8)	9 (34,6)	
		2	19 (51,4)	16 (61,5)	
Мутація 1 синтази окису азоту 3	NOS3 (-786 C>T)	0	12 (32,4)	11 (42,3)	$p_{\chi^2}=0,713$ ; $r_v=0,104$
		1	19 (51,4)	11 (42,3)	
		2	6 (16,2)	4 (15,4)	

Примітки:  $p_{\chi^2}$  — рівень значущості відмінностей розподілу показників між групами в цілому за критерієм  $\chi^2$ ;  $r_v$  — коефіцієнт кореляції Крамера.

чення в розвитку ускладнень вагітності, а також складається з п'яти родинних білків: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E та PlGF. VEGF — це багатофункціональний цитокін, який відіграє ключову роль в ангіогенезі *in vivo*.

У гені VEGF є декілька поліморфізмів, пов'язаних із виробленням цього білка. Під час нашого наукового дослідження вивчали поліморфізм у гені VEGF-A (-634 C>G) [6,7,10]. Враховуючи, що ендотеліальна дисфункція часто асоціюється зі зниженням біодоступності оксиду азоту (NO) через зменшення синтезу або посилення його деградації, додатково визначали поліморфізм синтази окису азоту 3 (NOS3).

Результати дослідження поліморфізму генів ангіогенезу наведено в таблиці 2.

За даними таблиці 2, нормальні гомозиготи гену VEGF-A (-634 C>G) мали лише 4 (10,8%) вагітні в I групі і 1 (3,9%) жінка в II групі, гетерозиготні поліморфізми — 14 (37,8%) і 9 (34,6%) вагітних відповідно, патологічні гомозиготи — 19 (51,4%) і 16 (61,5%) жінок відповідно (між групами  $p=0,532$  за  $\chi^2$ ). Відзначалася тенденція до підвищення ризику розвитку ПЕ в I триместрі в носіїв поліморфізму цього гену ( $r_s=0,226$ ,  $p=0,083$ ). Отримані дані опосередковано можуть вказувати на те, що в цих пацієнток відбувається неповне ремодулювання спіральних артерій через недостатність ангіогенних факторів. Адже наявність нормальної алелі -634 C>G пов'язана з вищим продукуванням VEGF-A, а це, своєю чергою, створює належний плацдарм для достатнього видалення м'язових оболонок на дистальних відділах спіральних артерій, їх розширення та зменшення швидкості кровоплину в них. Таким чином, наявність поліморфізмів -634 C>G у пацієнток свідчить про генетично детерміновані ризики розвитку ПЕ та інших плацента-асоційованих ускладнень на тлі генетично обумовленого зменшення продукції ангіогенних факторів.

Поліморфізми гену NOS3 (-786 C>T) відмічалися у 67,6% і 57,7% вагітних відповідно у I і II групах та чітко асоціювалися з втратами під час чинної вагітності ( $r_s=0,386$ ;  $p=0,002$ ). Так, 4 із 6 втрат вагітності (по 2 випадки переривання вагітності до 12 тижнів і в термін гестації від 12 до 22 тижня) відбулися в жінок із патологічною гомозиготою гену NOS3, ще 2 випадки (викидень у терміні 19 тижнів у пацієнтки з великою РХГ тривалістю з 7 до 18 тижнів вагітності, антенатальна загибель плода) спостерігалися в жінок з гетерозиготними поліморфізмами. З поліморфізмом гену пов'язаний підвищений рівень sFlt-1 ( $r_s=0,252$ ;  $p=0,063$ ) і показник співвідношення sFlt-1/PlGF в 32–33<sup>+6</sup> тижні вагітності ( $r_s=0,239$ ;  $p=0,079$ ).

Слід зазначити, що початковий тригерний механізм, що змінює експресію ангіогенних факторів, залишається нез'ясованим. Подальші дослідження зможуть повніше пояснити взаємозв'язок між про- і протиангіогенними факторами, формуванням плацентарної судинної системи та материнськими симптомами ПЕ. Можливо, вивчення генетичних поліморфізмів, що кодують ці ангіогенні білки, взаємозв'язку між різними їхніми варіантами та рівнем сироваткового маркера дасть змогу довести необхідність вивчення генетичної схильності на етапі планування вагітності, щоб мати змогу заздалегідь профілакувати ускладнення шляхом розроблення методу їхньої вторинної профілактики.

На сьогодні пошук найкращих за своєю передбачуваною цінністю біомаркерів ПЕ триває, залишаючись однією з головних тенденцій наукових досліджень в акушерстві та гінекології з огляду на тяжкість цього ускладнення вагітності.

## Висновки

Розрахунок ризику розвитку ПЕ в жінок із РХГ показує високий ризик її розвитку, що дово-

дять, що виникнення РХГ на етапі ранньої плаценталії підвищує ризики розвитку плацентарної дисфункції та акушерських ускладнень, пов'язаних з нею.

Наявність поліморфізмів VEGF-A (-634 C>G) у пацієнок призводить до формування генетично детермінованого ризику розвитку ПЕ та інших плацента-асоційованих ускладнень на тлі зменшення продукування ангіогенних факторів.

Отримані дані свідчать про вплив наявності поліморфізму гена NOS3 (-786 C>T) на рівень

sFlt-1, зокрема, призводить до його підвищеного рівня та зміни рівня співвідношення sFlt-1/PlGF в 32–33<sup>+6</sup> тижні вагітності, що свідчить про підвищений ризик розвитку пізньої ПЕ.

Результати отриманих досліджень свідчать, що найкращу передбачувану цінність має поєднання вивчення не тільки клінічних даних і біохімічних параметрів, але й генетичної детермінованості.

*Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.*

## References/Література

1. Agersnap I, Nissen PH, Hvas A-M. (2022). The Role of Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 (PAI-1) in Placenta-Mediated Pregnancy Complications: A Systematic Review. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 48 (5): 607–624. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1742082>.
2. Bonnans C, Chou J, Werb Z. (2014). Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 15 (12): 786–801. <https://doi.org/10.1038/nrm3904>.
3. Brosens I, Puttemans P, Benagiano G. (2019). Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes. *American journal of obstetrics and gynecology*. 221 (5): 437–456. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.05.044>.
4. Cardenas-Mondragon MG, Vallejo-Flores G, Delgado-Dominguez J, Romero-Arauz JF, Gomez-Delgado A, Aguilar-Madrid G et al. (2014). Preeclampsia is associated with lower production of vascular endothelial growth factor by peripheral blood mononuclear cells. *Archives of medical research*. 45 (7): 561–569. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.10.004>.
5. Carter AM, Enders AC, Pijnenborg R. (2015). The role of invasive trophoblast in implantation and placentation of primates. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 370 (1663): 20140070. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0070>.
6. Gannoun MBA, Al-Madhi SA, Zitouni H, Raguema N, Meddeb S et al. (2017). Vascular endothelial growth factor single nucleotide polymorphisms and haplotypes in pre-eclampsia: A case-control study. *Cytokine*. 97: 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.06.010>
7. Hamid HM, Abdalla SE, Sidig M, Adam I, Hamdan HZ. (2020). Association of VEGFA and IL1 $\beta$  gene polymorphisms with preeclampsia in Sudanese women. *Molecular genetics & genomic medicine*. 8 (3): e1119. <https://doi.org/10.1002/mgg3.1119>.
8. Loskutova TO, Demchenko TV, Kryachkova NV. (2020). Gene polymorphism of blood coagulation factors and endothelial dysfunction in early and late preeclampsia. *Medicni perspektivi (Medical perspectives)*. 25 (2): 66–71.
9. Ozkaya E, Altay M, Gelişen O. (2011). Significance of subchorionic haemorrhage and pregnancy outcome in threatened miscarriage to predict miscarriage, pre-term labour and intrauterine growth restriction. *Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology*. 31 (3): 210–212. <https://doi.org/10.3109/01443615.2010.545899>.
10. Papazoglou D, Galazios G, Koukourakis MI, Panagopoulos I, Kontomanolis EN, Papatheodorou K, Maltezos E. (2004). Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pre-eclampsia. *Molecular human reproduction*. 10 (5): 321–324. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah048>.

### Відомості про авторів:

**Ющенко Максим Ігорович** — очний денний аспірант каф. акушерства, гінекології та перинатології ФПО Дніпровського ДМУ. Адреса: м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. <https://orcid.org/0000-0001-7549-4664>.

**Дука Юлія Михайлівна** — д.мед.н., доц. каф. акушерства, гінекології та перинатології ФПО Дніпровського ДМУ. Адреса: м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. <https://orcid.org/0000-0003-1558-9850>.

Стаття надійшла до редакції 05.01.2023 р.; прийнята до друку 13.03.2023 р.