

Роль активності р65 NF-κB, каспази-3, а також поліморфізму гена VEGF у розвитку передчасних пологів при плацентарних порушеннях

I. Б. Венцківська, В. І. Купчік

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

Мета дослідження: вивчення активності р65-субодиниці ядерного фактора – NF-κB й ефекторної каспази-3, а також наявності однонуклеотидного поліморфізму гена VEGF (936C/T) у вагітних із плацентарними порушеннями та різними клінічними типами перебігу передчасної пологової діяльності (з передчасним розривом плодових оболонок та без нього).

Матеріали та методи. На клінічній базі кафедри акушерства та гінекології №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, яка розташована у КНП «Перинатальний центр м. Києва», протягом 2019–2022 рр. було проведено дослідження за типом «випадок–контроль» із залученням 90 вагітних: 60 жінок основної групи із плацентарними порушеннями та розвитком спонтанної передчасної пологової діяльності у терміні 24–34 тиж гестації (І група – 30 жінок із передчасними пологами з терміновим вилиттям вод, ІІ група – 30 жінок із передчасним розривом плодових оболонок) та 30 жінок групи контролю (ГК) із вчасними нормальними пологами та фізіологічним перебігом усієї вагітності.

У вагітних визначали кількість загальної та активованої фракції р65-субодиниці ядерного фактора NF-κB та каспази-3 імуноферментним методом ELISA у лізатах плаценти з подальшим розрахунком їхньої активності на підставі цих даних, а також наявність однонуклеотидного поліморфізму гена VEGF (936C/T) методом полімеразної ланцюгової реакції.

Результати. У жінок із плацентарними порушеннями та передчасними пологами порівняно із контрольною групою були виявлені достовірно вищі значення вмісту фракцій та активності р65 NF-κB та каспази-3 з деякими особливостями всередині груп.

Для жінок І групи була характерною більш висока активність р65-субодиниці ядерного фактора (І група – 61,6% з 95% ДІ 59,7–64,2; ІІ група – 33,8 пг/мл з 95% ДІ 31,2–35,2; ГК – 27,3 пг/мл з 95% ДІ 26,4–28,6; $p < 0,05$). У вагітних ІІ групи виявляли більш високі значення активності каспази-3 (ІІ група – 59,2% з 95% ДІ 57,4–59,8; І група – 39,5% з 95% ДІ 38,5–40,5; ГК – 31,2% з 95% ДІ 30,4–31,9; $p < 0,01$). Під час дослідження поліморфізму гена VEGF встановлено, що наявність алеля Т у позиції 936 є фактором ризику розвитку плацентарних порушень із виникненням передчасної пологової діяльності. Частота виявлення цього алеля в основній групі становила 11,7% проти 1,7% у контрольній когорті ($p < 0,05$).

Висновки. Для вагітних із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів порівняно з контрольною групою характерним є підвищення активності р65-субодиниці ядерного фактора κB і каспази-3: для жінок без передчасного розриву плодових оболонок встановлено значне – у 2,2 рази підвищення активності р65 NF-κB та в 1,3 рази – активності каспази-3; у групі вагітних із передчасним вилиттям вод збільшення показників становило відповідно 1,2 рази та 1,9 рази ($p < 0,01$ для всіх груп).

У жінок із плацентарними порушеннями та передчасними пологами достовірно частіше (11,7% проти 1,7% жінок контрольної групи; $p < 0,05$) виявляли однонуклеотидний поліморфізм гена васкулярного ендотеліального фактора росту у позиції 936(C/T), тобто носійство Т-алеля у гені VEGF може бути асоційованим із розвитком зазначених ускладнень вагітності. Тим не менш, для отримання остаточних результатів необхідно проведення дослідження у більшій вибірці жінок.

Ключові слова: р65 NF-κB, каспаза-3, передчасні пологи, плацентарні порушення, передчасний розрив плодових оболонок, однонуклеотидний поліморфізм гена VEGF.

Role of p65 NF-κB, caspase-3 activities and VEGF gene polymorphisms on the development of preterm labor in women with placental dysfunction

I. B. Ventskiv'ska V. I. Kupchik

The objective: to study the activity of the p65 subunit of the nuclear factor – NF-κB and effector caspase-3, as well as the presence of a single nucleotide polymorphism of the VEGF gene (936C/T) in pregnant women with placental disorders and various clinical types of the course of premature labor (with premature rupture of the membranes and without it).

Materials and methods. At the clinical base of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1 of O. O. Bogomolets National Medical University, which is located in the non-commercial enterprise “Perinatal Center of Kyiv”, during 2019–2022, a case-control study was conducted with the involvement of 90 pregnant women: 60 women of the main group with placental disorders and the development of spontaneous premature labor in the period of 24–34 weeks of gestation (I group – 30 women with premature labor and premature rupture of membranes, II group – 30 women with premature rupture of the membranes) and 30 women of control group (CG) with term normal delivery and the physiological course of the pregnancy.

In pregnant women, the number of total and activated fractions of the p65 subunit of nuclear factor NF-κB and caspase-3 was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in placenta lysates with further calculation of their activity based on these data, as well as the presence of a single nucleotide polymorphism of the VEGF gene (936C/T) using the polymerase chain reaction.

Results. In women with placental disorders and preterm birth a significantly higher values of fraction content and activity of p65 NF- κ B and caspase-3 were found, with some peculiarities within the groups compared to the control group.

Women of the I group were characterized by a higher activity of p65-subunit of nuclear factor (I group – 61.6% with 95% CI 59.7–64.2; II group – 33.8 pg/ml with 95% CI 31.2–35.2; CG – 27.3 pg/ml, 95% CI 26.4–28.6; $p < 0.05$). Pregnant women of the II group had higher values of caspase-3 activity (II group – 59.2% with 95% CI 57.4–59.8, I group – 39.5% with 95% CI 38.5–40.5, CG – 31.2%, 95% CI 30.4–31.9; $p < 0.01$). It was established that the presence of the T allele at position 936 of VEGF gene polymorphism is a risk factor for the development of placental disorders with the development of premature labor, the rate of this allele in the main group was 11.7% versus 1.7% – in the control cohort ($p < 0.05$).

Conclusions. Pregnant women with placental disorders and the development of premature birth are characterized by an increased activity of the p65 subunit of nuclear factor κ B and caspase-3 compared to the control group: in women without premature rupture of the fetal membranes, a significant 2.2-fold increase in p65 NF- κ B activity was found, and caspase-3 activity – by 1.3 times; in the group of pregnant women with preterm premature rupture of membranes the level of caspase-3 activity exceeded the control group by 1.9 times, and the level of p65-subunit of nuclear factor activity – by 1.2 times ($p < 0.01$ for all groups).

936(C/T) single nucleotide polymorphism of the vascular endothelial growth factor gene was determined significantly more often in women with placental disorders and preterm birth (11.7% in the study group versus 1.7% in CG, $p < 0.05$), the T-allele on the VEGF gene carriers may be associated with the development of these pregnancy complications. However, a study on a larger sample of women is needed to obtain definitive results.

Keywords: p65 NF- κ B, caspase-3, preterm birth, placental disorders, premature rupture of membranes, single nucleotide polymorphism of the VEGF gene.

Репродукція людини – це природний, але водночас надскладний процес, наповнений різноманітним взаємодій усіх систем організму для появи нового життя. На жаль, не завжди він проходить бездоганно, оскільки неспроможність материнського організму до необхідних для виношування плода змін часто призводить до виникнення ускладнень вагітності. Частково це зумовлено зміною темпу життя суспільства та збільшенням ролі стресу, погіршенням екології, появою нових інфекційних агентів, до яких імунна система не встигла пристосуватись.

Однак існують так звані великі акушерські синдроми, що виникають під час вагітності ще з давніх часів, і на кожному етапі розвитку людство використовувало всі здобутки науки й техніки свого часу задля їхнього вивчення та попередження. Саме до таких патологій належать передчасні пологи (ПП) та плацентарні порушення.

За даними ВООЗ, щороку у світі відбувається близько 15 млн випадків передчасних пологів, понад 84% з них припадають на термін 32–36 тиж гестації, близько 5% належать до категорії надзвичайно ранніх ПП (<28 тиж) [1].

Частота ПП, незважаючи на всі, спрямовані на боротьбу із цим ускладненням, зусилля, залишається досить сталою і дещо варіює залежно від географічного регіону з найвищими показниками у так званих слаборозвинених країнах (приблизно 11,8%) та найнижчими – у розвинутих (близько 9,3%) [2]. Тим не менш, як можна побачити, різниця між ними є мінімальною, що пояснюється частим використанням у країнах із високим доходом методів допоміжних репродуктивних технологій, для яких характерні багатоплідність, збільшення віку матері, що слугують чинниками ризику розвитку ПП [3].

Передчасні пологи є серйозною медичною та соціальною проблемою, вони вважаються основною причиною неонатальної смертності у всьому світі [4]. Це пов'язано із більш частим виникненням порушень у нервовій, дихальній, травній, сечовидільній системах, а також затримкою розвитку недоношених дітей [5]. Епідеміологічні дані свідчать про те, що народжені передчасно діти мають значно вищий ризик розвитку багатьох хронічних дегенеративних захворювань у дорослому віці, включаючи ішемічну хворобу серця, інсульт, гіпертензію та цукровий діабет 2-го типу [5].

За даними Centers for Disease Control and Prevention (CDC), у США на виходжування недоношеної дитини витрачають у 10 разів більше, ніж на виходжування доношеного малюка, а щорічні витрати економіки Сполучених Штатів на передчасно народжених дітей становлять 26 млрд доларів [6].

Прийнято вважати, що ПП є мультиетіологічним синдромом. І це дійсно так: незважаючи на провідну роль інфекції у їхньому розвитку [7], таргетна антибіотикотерапія часто не справляє ефекту на попередження ПП [8], а отже, такі випадки вважаються ідіопатичними. Сьогодні проводять значну роботу для ідентифікації причин розвитку ПП, оскільки, як правило, передчасну пологову діяльність важко зупинити після появи перших її симптомів, а отже, логічним є пошук методів профілактики виникнення цього ускладнення. Плацентарні порушення, на думку низки дослідників [6, 9, 10], можуть бути однією з таких прихованих причин розвитку ПП.

Плацентарні порушення – це також поліетіологічний синдром, зумовлений морфофункціональними порушеннями у плаценті та розладом пристосувально-гомеостатичних реакцій плаценти і плода [11]. Частота виникнення цієї патології становить близько 10–15% [12], перинатальна смертність при хронічній плацентарній недостатності становить серед доношених новонароджених 10,3%, серед недоношених – 49% [13]. Крім того, плацентарна недостатність є причиною близько 23,6% випадків антенатальної загибелі плода [14].

Плацентарні порушення є загальновізною причиною виникнення таких акушерських синдромів, як прееклампсія та затримка розвитку плода (рис. 1), а також становлять значний ризик не тільки для здоров'я матері та новонародженого, а й відіграють ключову роль у довгострокових ризиках для дитини у майбутньому, результатом чого є хронізація хвороб у дорослих [6, 15].

За численними літературними даними, частота виникнення плацентарних порушень невпинно підвищується [16], а існуючі схеми лікування є малоефективними [17], що зумовлює актуальність дослідження цього синдрому для пошуку профілактичних та лікувальних стратегій.

Деякі автори припускають, що у розвитку ускладнень вагітності певну роль відіграють процеси запалення.



Рис. 1. Великі акушерські синдроми (ПЕ – преєклампсія, ЗВУР – затримка внутрішньоутробного розвитку плода, ПП – передчасні пологи) мають спільні патофізіологічні риси та залежать від тяжкості плацентарних порушень, що лежать в їхній основі (джерело: Morgan, T. Role of the Placenta in Preterm Birth: A Review. American Journal of Perinatology. 2016; 33(03), 258–66).

лення та апоптозу [18,19], неналежна регуляція яких може призводити до плацентарних порушень та ПП. Також беззаперечним є факт, що для нормального розвитку вагітності необхідна належна васкуляризація фетоплацентарного комплексу. Для цього важливо адекватне функціонування систем, які контролюють ангіогенез та васкулогенез [20].

Одним із провідних регуляторів запальної відповіді організму є ядерний фактор – NF-κB (nuclear factor κ-light-chain-enhancer of activated B cells), а саме – його р65-субодиниця [21]. Роль р65 NF-κB в ініціації пологів була доведена у жінок із доношеною вагітністю: рівень активності фосфорильованої р65-субодиниці був підвищений у плодових оболонках (епітеліальних клітинах амніона) жінок із терміновими пологами на їхньому початку [22].

Також доведено, що цей фактор може активуватись внаслідок тютюнопаління [23], вживання алкоголю [24], у результаті перенесення вірусних захворювань із розвитком вираженої клінічної картини [25], а також у жінок зі звичним невиношуванням вагітності [26] – усі ці чинники слугують факторами ризику розвитку плацентарних порушень та передчасної пологової діяльності, що й зумовило інтерес до дослідження р65 NF-κB.

Під час вивчення активності процесу апоптозу у жінок при термінових пологах також було виявлено підвищену експресію генів-контролерів активності каспази-3, каспази-8, а також пригнічення генів-інгібіторів апоптозу [27]. Посилення процесів клітинної загибелі пов'язане з підвищенням рівня гомоцистеїну та оксидантного стресу, які є чинниками розвитку плацентарних порушень. Відповідно посилення апоптозу при розладах функції плаценти також може бути причиною ПП.

Існують переконливі докази того, що фактор росту ендотелію судин (VEGF) є критично необхідним для всіх етапів формування та розвитку судин плаценти [28]. У дослідях на тваринах цілеспрямоване створен-

ня VEGF-дефіцитного середовища спричинює загибель ембріона через недостатній розвиток кровоносних судин під час ембріогенезу, що свідчить про його ключову роль у васкулогенезі [29].

Однонуклеотидні поліморфізми гена васкулярно-ендотеліального фактора росту можуть відігравати роль у порушенні експресії білка VEGF, що своєю чергою асоціюється з виникненням плацентарних порушень. До того ж напередодні пологів циркулюючі рівні VEGF значно зменшуються, що може бути причиною розвитку ПП при плацентарних порушеннях, які виникають внаслідок дисбалансу концентрації VEGF.

У даному дослідженні відображена спроба вивчити стан процесів запалення та апоптозу при плацентарних порушеннях та ПП за допомогою встановлення активності р65-субодиниці ядерного фактора В і каспази-3 у плаценті, а також визначити наявність впливу поліморфізму гена VEGF на розвиток зазначених ускладнень вагітності.

Мета дослідження: вивчення активності р65-субодиниці ядерного фактора – NF-κB й ефекторної каспази-3, а також наявності однонуклеотидного поліморфізму гена VEGF (936C/T) у вагітних із плацентарними порушеннями та різними клінічними типами перебігу передчасної пологової діяльності (з передчасним розривом плодових оболонок та без нього).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

До проведення дослідження за типом «випадок-контроль» залучили 60 жінок (основна група), які спостерігались у жіночій консультації КНП «Перинатальний центр м. Києва» із діагнозом плацентарних порушень та у яких згодом розвинулась передчасна пологова діяльність у терміні 24–34 тиж гестації. До групи ризику розвитку плацентарних порушень належали вагітні, у яких під час проведення I та II скринінгів гестації були виявлені знижені порівняно з нормою рівні хоріонічного гонадотропіну, асоційованого з вагітністю білка, некон'югованого естріолу, а також спостерігалось підвищення рівня альфа-фетопротеїну. У таких випадках жінкам було рекомендовано визначення додаткових показників: діагноз плацентарних порушень (за МКХ-10 код O43.9) встановлювали вагітним на підставі знижених рівнів плацентарного лактогену, прогестерону, плацентарної (термостабільної) лужної фосфатази.

Вагітні основної групи були розподілені таким чином:

- I група – 30 жінок із плацентарними порушеннями, ПП з вилиттям вод на 8 см розкриття і пізніше;
- II група – 30 жінок із плацентарними порушеннями, розвитком передчасної пологової діяльності та передчасним розривом плодових оболонок (ПРПО).

До контрольної групи увійшли 30 жінок з анамнезом фізіологічного перебігу вагітності та нормальними терміновими пологами без ускладнень.

Для усунення кофакторності впливу чинників на результати дослідження критеріями виключення стали вагітність, що настала внаслідок використання допоміжних репродуктивних технологій, розвиток гестозу другої половини вагітності, тяжка супутня патологія. Було отримано письмову згоду від усіх учасниць з їхнім інформуванням про зміст, хід та мету дослідження.

Таблиця 1

Кількісний склад загального p65 NF-κB_{заг.}, фосфорильованого p65 NF-κB_{фосф.}, ступінь активності p65 NF-κB_{акт.} у досліджуваних групах та групі контролю (ГК)

Група	p65 NF-κB _{заг.} , пг/мл			p65 NF-κB _{фосф.} , пг/мл			p65 NF-κB _{акт.} , %		
	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3
I, n=30	75,7*	68,2	80,2	46,9*	38,3	51,4	61,6*	55,9	65,1
II, n=30	63,1*	59,8	65,9	21,5*	19,1	22,7	33,8*	30,1	35,5
ГК, n=30	50,3	49,1	53,3	14,0	12,7	14,7	27,3	25,3	29,2

Примітка. * – p<0,05 при порівнянні із контрольною групою.

Таблиця 2

Кількісний склад загальної каспази-3_{заг.}, активованої каспази-3_{асп.}, ступінь активності каспази-3_{акт.} у досліджуваних групах та групі контролю (ГК)

Група	Каспаза-3 _{заг.} , пг/мл			Каспаза-3 _{асп.} , пг/мл			Каспаза-3 _{акт.} , %		
	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3
I, n=30	51,4*	50,7	55,2	20,7*	19,0	22,0	39,5*	37,9	41,3
II, n=30	69,5*	66,2	71,1	40,6*	38,7	43,0	59,2*	57,2	60,1
ГК, n=30	41,1	39,5	42,3	12,8	12,1	13,6	31,2	29,8	33,6

Примітка. * – p<0,05 при порівнянні із контрольною групою.

Визначення загального та фосфорильованого p65 NF-κB, а також каспази-3, проводили шляхом використання імуноферментного «сандвіч»-методу ELISA у лізатах плацент, отриманих після пологів.

Для виготовлення лізатів свіжу плацентарну тканину розрізали на дрібні шматочки та лізували за допомогою трис-лізисного буфера. Лізати центрифугували для очищення від домішок і у подальшому використовували набори RayBio® Phospho-NF-κB P65 (Ser536) and Total NF-κB P65 ELISA kit та Human Cleaved-Caspase-3 (D175) and Caspase-3 ELISA. Визначення активності зазначених чинників проводили шляхом знаходження частки активованого білка від загальної його кількості, відображеної у відсотках.

Дослідження поліморфізму гена VEGF 936C/T проводили методом ПЛР із наступною рестрикцією ендонуклеазами. Комплементарну добудову ланцюга починали зі створення стартових блоків з використанням 20 нуклеотидних пар-праймерів 5'-AAGGAAGAGGAGACTCTGCCG-3' та 5'-TATGTGGGTGGGTGTGTCTACAGG-3'. Аналіз результатів ПЛР проводили методом електрофорезу в агарозному чи поліакриламідному гелі.

Статистичне оброблення виконували за допомогою програм MedStat v.5.2 та EZR v.3.4.1. Спочатку аналізували нормальність розподілу отриманих даних із використанням критерію Шапіро-Уїлка, далі використовували метод множинних порівнянь за ранговим однофакторним аналізом Крускала-Волліса. Статистичну значущість визначали при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під час дослідження концентрації загального, фосфорильованого p65 NF-κB, а також розрахунку показника активності, було встановлено достовірну різницю між усіма групами: як основною й контрольною, так і між групами основної когорти (табл. 1).

Для жінок основної групи без ПРПО були характерні найвищі значення як загальної p65 NF-κB (медіана 75,7 пг/мл; 95%ДІ: 68,8–79,2), так і фосфорильованої фракції (медіана 46,9 пг/мл; 95 %ДІ: 43,1–49,6) з високими значеннями активності білка (медіана 61,6 %; 95 %ДІ: 59,7–64,2).

Щодо групи вагітних із ПРПО, то значення всіх трьох показників у них (загальної p65 NF-κB – медіана 63,1 пг/мл, 95%ДІ: 59,9–64,2; фосфорильованого p65 NF-κB – медіана 21,5 пг/мл, 95 %ДІ: 19,9–22,3; активності p65 NF-κB – медіана 33,8 пг/мл, 95%ДІ: 31,2–35,2) відрізнялися від показників групи контролю (p65 NF-κB_{заг.}: медіана 50,3 пг/мл, 95 %ДІ: 49,6–51,8; p65 NF-κB_{фосф.}: медіана 14,0 пг/мл, 95 %ДІ: 13,2–14,6; p65 NF-κB_{акт.}: медіана 27,3 пг/мл, 95%ДІ: 26,4–28,6) на рівні достовірності p<0,05, а від попередньої I групи жінок – на рівні достовірності p<0,01.

Для концентрацій загальної каспази-3_{заг.}, активованої каспази-3_{асп.}, а також для показника активності каспази-3_{акт.}, було виявлено достовірну міжгрупову різницю всередині основної когорти, а також відмінність показників I та II груп від показників контрольною групи на рівні достовірності p<0,01 (табл. 2).

Під час дослідження концентрації фракцій та активності каспази-3 найвищі показники спостерігались у жінок із виникненням ПРПО: медіани концентрацій становили для загальної каспази-3 69,5 пг/мл, 95%ДІ: 66,2–70,3; активованої каспази-3 – 40,6 пг/мл, 95 % ДІ: 39,1–42,1; активності – 59,2%, 95 % ДІ: 57,4–59,8.

Для жінок без ПРПО були характерні більш низькі рівні як концентрації загальної (медіана 51,45 пг/мл; 95%ДІ: 50,9–54,6) й активної (медіана 20,7 пг/мл; 95%ДІ: 19,8–21,6) каспаз, так і активності (медіана 39,5%, 95 % ДІ: 38,5–40,5), на рівнях достовірності p<0,01 з контрольною групою та групою II.

У жінок контрольною групи рівень загальної каспази становив – медіана 41,1 пг/мл, 95 %ДІ: 40,1–41,6; ак-

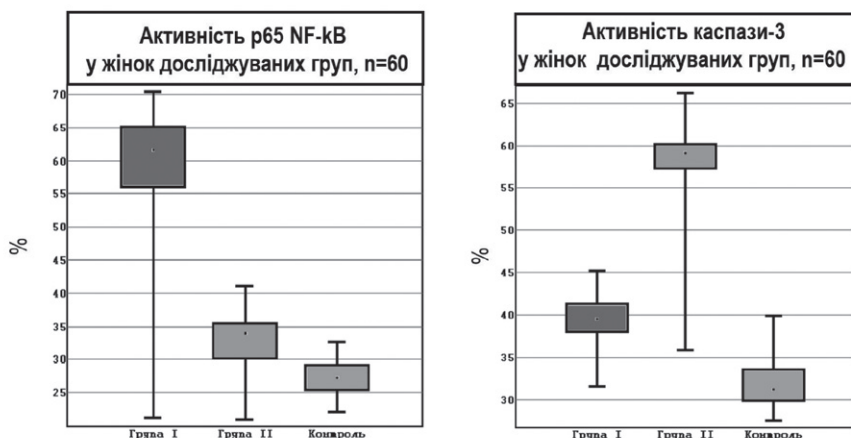


Рис. 2. Графічне порівняння активності р65 NF-κB та каспази-3 у жінок основної та контрольної груп

тивованої її фракції – медіана 12,8 пг/мл, 95% ДІ: 12,2-13,2; активності – медіана 31,2%, 95% ДІ: 30,4–31,9.

Графічне відображення активності р65-субодиниці ядерного фактора κB та каспази-3 в основній та контрольній групах наведено на рис. 2.

Узагальнюючи дані результатів розподілу алелів гена VEGF у локусі 936 (табл. 3), носіями гомозиготного генотипу за домінантним алелем С у локусі 936 були 81,7% жінок основної групи та 96,7% вагітних групи контролю; гетерозиготи СТ виявлено у 13,3% основної та 3,3% контрольної когорт.

У контрольній групі не було виявлено гомозигот за Т-алелем, в основній групі 5% вагітних мали генотип ТТ. При порівнянні частотності виявлення алеля у когорті вагітних основної групи встановлено, що частота алеля Т становить 11,7%. Це достовірно відрізняється від показників контрольної групи.

NF-κB є фактором транскрипції, багатогранність дії якого зумовлена особливостями його структури та функціонування. У неактивному стані ядерний фактор знаходиться у цитоплазмі, зв'язаний із білками-інгібіторами, після активації, індукторами якої можуть бути різноманітні чинники: ліпоптротеїни клітинної стінки бактерій, фактор некрозу пухлин, підвищена кількість ІЛ-1β, сигнали з Toll-подібних рецепторів тощо, відбувається відщеплення гальмівної молекули, а вивільнений фосфорильований білок переміщується у ядро

Таблиця 3

Розподіл алелів гена VEGF (936 С/Т) у жінок основної та контрольної груп

936 VEGF		Основна група, n=60		Контрольна група, n=30	
		n	%	n	%
Генотипи	CC	49	81,7	29	96,7
	CT	8	13,3*	1	3,3
	TT	3	5,0*	0	—
Алелі	С	106	88,3	59	98,3
	Т	14	11,7*	1	1,7

Примітка. * – p<0,05 при порівнянні із контрольною групою.

клітини, де впливає на експресію різноманітних генів, у тому числі запальних [30].

Для ядерного фактора характерна комплексність, оскільки він складається з так званих субодиниць, серед яких виділяють 5 основних: NF-κB1 (p105, p50), NF-κB2 (p100, p52), RelA (p65), RelB та c-Rel. Класично саме RelA, або р65-субодиниця, найбільш тісно пов'язана із процесами запалення – вже декілька десятків років розглядається її роль у таких захворюваннях, як ревматоїдний артрит, запальні захворювання кишечника, розсіяний склероз, а також у нейродегенеративних та онкологічних патологіях.

Ураховуючи, що як для плацентарних порушень, так і для ПП запалення вважається одним із головних механізмів патогенезу, дослідження активності р65-субодиниці NF-κB у жінок, вагітність яких ускладнилась цими патологіями, становить певну цікавість. Відомо, що для пологів теж характерне проінфламаторне середовище – тому до групи контролю увійшли жінки, у яких розвинулась самовільна пологова діяльність у доношеному терміні.

У дослідженні було виявлено, що при плацентарній дисфункції та ПП концентрації фракцій і показник активності р65 NF-κB є достовірно вищими, ніж при термінових пологах. І хоча при розвитку нормальної пологової діяльності також спостерігається певна активність цього фактора транскрипції, рівні її значно відрізняються при плацентарних порушеннях та ПП. До того ж було виявлено, що клінічний перебіг ПП також різниться за активністю р65-субодиниці ядерного фактора: достовірно вищі значення спостерігаються у групі жінок без ПРПО.

Результати даного дослідження дають змогу припустити, що при плацентарних порушеннях створюються передумови для гіперактивації р65-субодиниці NF-κB, що призводить до надмірної імунозапальної відповіді і, як наслідок, ініціації процесів передчасної пологової діяльності за обома клінічними типами (як із розвитком ПРПО, так і без). Але більш високі показники активності асоціюються із пологами без ПРПО.

Уже багато років проводяться дослідження взаємовпливу й ролі р65-субодиниці NF-κB у процесах не тільки запалення, але і клітинної загибелі. Деякі роботи свідчать, що RelA може ініціювати процеси апоптозу [31], інші демонструють, що підвищення активності р65 у дослідках на культурах клітин призводить до пригнічення процесів клітинної загибелі в них [32]. Можливо, це пов'язано із різними шляхами активації апоптозу та р65 NF-κB, оскільки кожен із них може запускатись канонічним, неканонічним та альтернативним шляхами через різні стимули.

Загалом запрограмована смерть клітин, або апоптоз, – це процес, що супроводжує вагітність протягом усієї її тривалості, оскільки адекватний розвиток плаценти залежить від ефективної імплантації та інвазії у децидуальну оболонку плацентарного трофобласта, для чого необ-

хідною є помірна активність процесів апоптозу на ранніх термінах вагітності. Водночас встановлено, що гіперактивність його на ранніх термінах призводить до розвитку таких ускладнень вагітності, як, наприклад, міхуровий занос, прееклампсія, основу яких становить неналежне функціонування плацентарного комплексу.

Головними ферментами, що як регулюють, так і виконують роль клітинного пошкодження, є сімейство цистеїнових протеаз – каспази. Класично вони діляться на регуляторні та ефекторні й активуються каскадоподібним способом. Одна з таких ефекторних протеаз – каспаза-3 – становила цікавість для даного дослідження через, по-перше, свою активну роль у процесах клітинної загибелі, по-друге, через існуючі дані щодо підвищення експресії генів каспази при ПП у досліджах на тваринах [33] і, нарешті, через її здатність до розщеплення р65-субодиниці NF-κB [34].

У дослідженні було встановлено, що для процесів апоптозу також характерна підвищена активність при плацентарних порушеннях із ПП порівняно із терміновими пологамі: було знайдено достовірну різницю у показниках як концентрації фракцій каспази-3, так і ступеня її активності між основною та контрольною групами, а також між групами I і II основної групи. Більш висока активність досліджуваної цистеїнової протеази спостерігалась у жінок II групи з ПРПО, водночас активність р65 NF-κB у цих жінок була вищою за показник контрольної групи, але нижчою за цей показник у I групі вагітних.

Такі результати свідчать на користь зазначеної вище теорії про пригнічення каспазою-3 RelA-субодиниці ядерного фактора, а також – про більш високу активність апоптозу у жінок із плацентарними порушеннями. Переважання клітинної загибелі при ПРПО можна пояснити впливом апоптозних процесів на матриксні протеїнази [35], які активують процеси колагенлізу у плодових оболонках, що призводить до їхнього стоншення та передчасного розриву.

Нормальні васкулогенез та ангиогенез кровоносних судин є життєво важливими для фізіологічного перебігу вагітності. Члени родини васкулярного ендотеліального фактора росту (VEGF) та їхні рецептори є ключовими регуляторами інвазії трофобласта та ангиогенезу плаценти. Дослідження сімейства білків VEGF виявило, що вони мають найвищу ангиогенну та васкулогенну активність [36], але, водночас, досить схильні до виникнення поліморфізмів [37].

Зміна алелів у структурі васкулярного ендотеліального фактора росту має різні наслідки залежно від ділянки, де вона виникає: деякі є клінічно незначущими, інші ж призводять до дефекту продукування білка VEGF, знижуючи його концентрацію у тканинах організму з розвитком патологічних станів. Саме таким поліморфіз-

мом є заміна цитозину на тимін у 936 позиції 3'нетранслюючої ділянки гена васкулярного ендотеліального фактора росту. У жінок із плацентарною дисфункцією та розвитком ПП алель T виявляли достовірно частіше, ніж у жінок контрольної групи (11,7% проти 1,7% у контрольній групі), при цьому у групі контролю вагітних із гомозиготним набором рецесивних алелів (TT) виявлено не було.

Для остаточного з'ясування впливу поліморфізмів на виникнення певного захворювання необхідне проведення масштабних популяційних досліджень, але, тим не менш, виявлені у цьому дослідженні зміни можуть слугувати вектором для подальшого діагностичного і клінічного пошуку механізмів виникнення плацентарних порушень і розвитку на їхній основі передчасної пологової діяльності.

ВИСНОВКИ

Отримані у даному дослідженні результати свідчать про те, що порівняно з контрольною групою вагітних із терміновими пологамі та неускладненим перебігом гестації для плацентарних порушень із розвитком передчасних пологів (ПП) характерним є підвищення активності р65-субодиниці ядерного фактора NF-κB і каспази-3, але ступінь цих змін різниться залежно від клінічного перебігу ПП.

Для групи жінок без передчасного розриву плодових оболонок характерним є значне (різниця за медіаною значень у 2,2 раза) підвищення активності р65 NF-κB та деяке (в 1,3 раза за медіаною значень) збільшення активності каспази-3. У групі жінок із передчасним вилиттям вод спостерігали протилежні показники: рівні активності каспази-3 перевищували результати контрольної групи в 1,9 раза за медіанами, а рівні активності р65-субодиниці ядерного фактора – в 1,2 раза (для всіх груп рівень достовірності становив $p < 0,01$).

Зазначені зміни можуть свідчити про більш активні імунізапальні та апоптичні процеси у жінок із плацентарною дисфункцією, що може слугувати причиною розвитку у них передчасної пологової діяльності. Також було зафіксовано, що у жінок із плацентарними порушеннями та ПП достовірно частіше (11,7% у групі вагітних із плацентарними порушеннями проти 1,7% жінок контрольної групи) виявляли одонуклеотидний поліморфізм гена васкулярного ендотеліального фактора росту у позиції 936(C/T), тобто таке носійство T-алеля у гені VEGF може бути асоційованим із розвитком зазначених ускладнень вагітності. Тим не менш, для отримання остаточних результатів необхідно проведення дослідження із більшою вибіркою жінок.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Відомості про авторів

Венцківська Ірина Борисівна – д-р мед. наук, проф., кафедра акушерства і гінекології № 1, медичний факультет № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ. *E-mail: ventskovskaya.irina@gmail.com*
ORCID: 0000-0002-7685-5289

Купчик Владислава Ігорівна – аспірантка, кафедра акушерства і гінекології № 1, медичний факультет № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ. *E-mail: elanie92@gmail.com*
ORCID: 0000-0002-4394-260X

Information about the authors

Ventskiv'ska Iryna B. – MD, PhD, DSc, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology N 1, Medical Faculty N 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv. *E-mail: ventskovskaya.irina@gmail.com*

ORCID: 0000-0002-7685-5289

Kupchik Vladyslava I. – MD, PhD-student, Department of Obstetrics and Gynecology N 1, Medical Faculty N 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv. *E-mail: elanie92@gmail.com*

ORCID: 0000-0002-4394-260X

ПОСИЛАННЯ

- Walani SR. Global burden of preterm birth. *Int J Gynaecol Obstet.* 2020;150(1):31-3. doi: 10.1002/ijgo.13195.
- Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ.* 2010;88(1):31-8. doi: 10.2471/BLT.08.062554.
- Granese R, Gitto E, D'Angelo G, Falsaperla R, Corsello G, et al. Preterm birth: seven-year retrospective study in a single centre population. *Ital J Pediatr.* 2019;45(1):45. doi: 10.1186/s13052-019-0643-9.
- Muhe LM, McClure EM, Nigusie AK, Mekasha A, Worku B, et al. Major causes of death in preterm infants in selected hospitals in Ethiopia (SIP): a prospective, cross-sectional, observational study. *Lancet Glob Health.* 2019;7(8):e1130-8. doi: 10.1016/S2214-109X(19)30220-7.
- Johnson S, Strauss V, Gilmore C, Jaekel J, Marlow N, Wolke D. Learning disabilities among extremely preterm children without neurosensory impairment: Comorbidity, neuropsychological profiles and scholastic outcomes. *Early Hum Dev.* 2016;103:69-75. doi: 10.1016/j.earhumdev.2016.07.009.
- Morgan TK. Role of the Placenta in Preterm Birth: A Review. *Am J Perinatol.* 2016;33(3):258-66. doi: 10.1055/s-0035-1570379.
- Ventskiv'ska I.B., Bila V.V., Zagorodnya O.S. Premature childbirth (Clinical lecture). *Women's health.* 2018;130(4):9-11.
- Lamont RF. Advances in the Prevention of Infection-Related Preterm Birth. *Front Immunol.* 2015;6:566. doi: 10.3389/fimmu.2015.00566.
- Lien YC, Zhang Z, Cheng Y, Polyak E, Sillers L, Falk MJ, et al. Human Placental Transcriptome Reveals Critical Alterations in Inflammation and Energy Metabolism with Fetal Sex Differences in Spontaneous Preterm Birth. *Int J Mol Sci.* 2021;22(15):7899. doi: 10.3390/ijms22157899.
- Di Renzo GC, Tosto V, Giardina I. The biological basis and prevention of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;52:13-22. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.01.022.
- Kravchenko O. Placental dysfunction as a basic pathology of perinatal complications. *Reprod Endocrinol.* 2021;58:107-12. doi: 10.18370/2309-4117.2021.58.107-112.
- Wardinger JE, Ambati S. Placental Insufficiency. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan.*
- Candel Pau J, Castillo Salinas F, Perapoch López J, Carrascosa Lezcano A, Sánchez García O, Urrba Olivé E. Perinatal outcome and cardiac dysfunction in preterm growth-restricted neonates in relation to placental impairment severity. *An Pediatr (Barc).* 2016;85(4):170-80. doi: 10.1016/j.anpedi.2015.03.014.
- Gibbins KJ, Pinar H, Reddy UM, Saade GR, Goldenberg RL, Dudley DJ, et al. Findings in Stillbirths Associated with Placental Disease. *Am J Perinatol.* 2020;37(7):708-15. doi: 10.1055/s-0039-1688472.
- Takahashi M, Makino S, Oguma K, Imai H, Takamizu A, Koizumi A, et al. Fetal growth restriction as the initial finding of preeclampsia is a clinical predictor of maternal and neonatal prognoses: a single-center retrospective study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2021;21(1):678. doi: 10.1186/s12884-021-04152-2.
- Burton GJ, Jauniaux E. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(2S):S745-61. doi: 10.1016/j.ajog.2017.11.577.
- Sibley CP. Treating the dysfunctional placenta. *J Endocrinol.* 2017;234(2):R81-97. doi: 10.1530/JOE-17-0185.
- Raguema N, Moustadraf S, Bertagnoli M. Immune and Apoptosis Mechanisms Regulating Placental Development and Vascularization in Preeclampsia. *Front Physiol.* 2020;11:98. doi: 10.3389/fphys.2020.00098.
- Nadeau-Vallée M, Obari D, Palacios J, Brien MÈ, Duval C, Chemtob S, et al. Sterile inflammation and pregnancy complications: a review. *Reproduction.* 2016;152(6):R277-92. doi: 10.1530/REP-16-0453.
- Giardini V, Ornaghi S, Gambacorti-Passerini C, Casati M, Carrer A, Acampora E, et al. Imbalanced Angiogenesis in Pregnancies Complicated by SARS-CoV-2 Infection. *Viruses.* 2022;14(10):2207. doi: 10.3390/v14102207.
- Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF-κB signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017;2:17023. doi: 10.1038/sigtrans.2017.23.
- Gómez-Chávez F, Correa D, Navarrete-Meneses P, Cancino-Díaz JC, Cancino-Díaz ME, Rodríguez-Martínez S. NF-κB and Its Regulators During Pregnancy. *Front Immunol.* 2021;12:679106. doi: 10.3389/fimmu.2021.679106.
- Liu J, Chen SJ, Hsu SW, Zhang J, Li JM, Yang DC, et al. MARCKS cooperates with NKAP to activate NF-κB signaling in smoke-related lung cancer. *Theranostics.* 2021;11(9):4122-36. doi: 10.7150/thno.53558.
- Nowak AJ, Relja B. The Impact of Acute or Chronic Alcohol Intake on the NF-κB Signaling Pathway in Alcohol-Related Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24):9407. doi: 10.3390/ijms21249407.
- Zhao J, He S, Minassian A, Li J, Feng P. Recent advances on viral manipulation of NF-κB signaling pathway. *Curr Opin Virol.* 2015;15:103-11. doi: 10.1016/j.coviro.2015.08.013.
- Zhang Q, Tian P, Xu H. MicroRNA-155-5p regulates survival of human decidua stromal cells through NF-κB in recurrent miscarriage. *Reprod Biol.* 2021;21(3):100510. doi: 10.1016/j.repbio.2021.100510.
- Negara KS, Suwiyoga K, Pemyayun TGA, Sudewi AAR, Astawa NM, Arijana IGNK, et al. The Role of Caspase-3, Apoptosis-Inducing Factor, and B-cell Lymphoma-2 Expressions in Term Premature Rupture of Membrane. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2018;40(12):733-9. doi: 10.1055/s-0038-1675611.
- Chen DB, Zheng J. Regulation of placental angiogenesis. *Microcirculation.* 2014;21(1):15-25. doi: 10.1111/micc.12093.
- Regnault TR, Orbus RJ, de Vrijer B, Davidsen ML, Galan HL, Wilkening RB, et al. Placental expression of VEGF, PlGF and their receptors in a model of placental insufficiency-intrauterine growth restriction (PI-IUGR). *Placenta.* 2002;23(2-3):132-44. doi: 10.1053/plac.2001.0757.
- Vaughan JE, Walsh SW. Activation of NF-κB in placentas of women with preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2012;31(2):243-51. doi: 10.3109/10641955.2011.642436.
- Nie J, Cao X, Zhou M, Zhang X, Zhang R, Niu L, et al. Musca domestica pupae lectin induces apoptosis in HepG2 cells through a NF-κB/p65-mediated caspase pathway. *Bull Cancer.* 2012;99(4):E49-54. doi: 10.1684/bdc.2012.1557.
- Tsurushima K, Tsubaki M, Takeda T, Matsuda T, Kimura A, Takefuji H, et al. Dimethyl Fumarate Induces Apoptosis via Inhibition of NF-κB and Enhances the Effect of Paclitaxel and Adriamycin in Human TNBC Cells. *Int J Mol Sci.* 2022;23(15):8681. doi: 10.3390/ijms23158681.
- Tarquini F, Picchiassi E, Coata G, Centra M, Bini V, Meniconi S, et al. Induction of the apoptotic pathway by oxidative stress in spontaneous preterm birth: Single nucleotide polymorphisms, maternal lifestyle factors and health status. *Biomed Rep.* 2018;9(1):81-9. doi: 10.3892/br.2018.1103.
- Wier EM, Fu K, Hodgson A, Sun X, Wan F. Caspase-3 cleaved p65 fragment dampens NF-κB-mediated anti-apoptotic transcription by interfering with the p65/RPS3 interaction. *FEBS Lett.* 2015;589(23):3581-7. doi: 10.1016/j.febslet.2015.10.019.
- Fortunato SJ, Menon R, Bryant C, Lombardi SJ. Programmed cell death (apoptosis) as a possible pathway to metalloproteinase activation and fetal membrane degradation in premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(6):1468-76. doi: 10.1067/mob.2000.107330.
- Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes Cancer.* 2011;2(12):1097-105. doi: 10.1177/1947601911423031.
- Kim YJ, Chung WC, Jun KH, Chin HM. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor (VEGF) associated with gastric cancer recurrence after curative resection with adjuvant chemotherapy. *BMC Cancer.* 2019;19(1):483. doi: 10.1186/s12885-019-5702-5.

Стаття надійшла до редакції 26.01.2023. – Дата першого рішення 29.01.2023. – Стаття подана до друку 02.02.2023