

ВПЛИВ ГІПОВІТАМІНОЗУ D НА АКТИВНІСТЬ P-65 СУБОДИНИЦІ ЯДЕРНОГО ФАКТОРУ κB У ПАТОГЕНЕЗІ ПЛАЦЕНТАРНОЇ ДИСФУНКЦІЇ

Поладич І.В. <https://orcid.org/0000-0002-8494-2534>

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна

iren.poladich@gmail.com

Ціль: вивчити роль вітаміну D в активації ядерного фактору κB (NF- κB), як чинника розвитку плацентарних порушень.

Матеріали та методи. У дослідженні взяли участь 135 жінок, які спостерігалися та народжували в КНП «Перинатальний центр м. Київ». Дослідження проведено за типом «випадок–контроль» із залученням 105 вагітних жінок основної групи з плацентарною дисфункцією (І група – 70 жінок з дефіцитом вітаміну D менше 20 нг/мл, ІІ група – 35 жінок з дефіцитом вітаміну D від 20 до 30 нг/мл) та 30 жінок контрольної групи з фізіологічним перебігом вагітності та нормальними терміновими пологамі без ускладнень. Методом імуноферментного аналізу у крові вагітних визначали концентрацію 25(OH)D, використовуючи набір реагентів Monobind (США) та мікропланшетний зчитувач Sinnova ER 500 (Китай). Визначення p65 NF- κB проводили методом імуноферментного аналізу RayBio Human Procalcitonin ELISA (RayBiotech, Inc. США) використовували набір Phospho-NF- κB P65 (Ser536) та Total NF- κB P65 ELISA Kit. Статистичну обробку даних виконували за допомогою програм MedStat v.5.2 та EZR v.3.4.1. Спочатку перевіряли нормальність розподілу отриманих даних із використанням критерію Шапіро–Уїлка, після чого застосовували метод множинних порівнянь за ранговим однофакторним аналізом Крускала–Волліса. Статистичну значущість визначали при $p < 0,05$.

Результати. Дослідження виявило достовірну різницю у рівнях загального та фосфорильованого білка p65 NF- κB між групами вагітних з дефіцитом вітаміну D та контрольною групою ($p < 0,05$). У вагітних з дефіцитом вітаміну D значно підвищувалися рівні загального p65 NF- κB (медіана 69,5 пг/мл) і його активованої форми, що свідчить про активацію запальних процесів у плаценті. Клінічні прояви плацентарної дисфункції, такі як затримка росту плода, прееклампсія і передчасні пологи, спостерігалися у третини жінок із дефіцитом вітаміну D. Це супроводжувалося змінами гормональної функції плаценти (зниження прогестерону та стабілізація плацентарного лактогену) і морфологічними ознаками плацентарних порушень. Підвищення активності p65 NF- κB було найвищим у жінок із плацентарними порушеннями, зокрема прееклампсією, затримкою росту плода та передчасними пологамі, що свідчить про зв'язок між дефіцитом вітаміну D та запаленням у плаценті.

Висновок. При рівні вітаміну D нижче 20 нг/мл спостерігається активація фактора p65 NF- κB , що асоціюється з плацентарною дисфункцією незалежно від перебігу вагітності. Це підтверджує роль дефіциту вітаміну D у процесі активації NF- κB та виникненні плацентарних порушень.

Ключові слова: p65 NF- κB , гіповітаміноз D, вагітність, плацентарна дисфункція.

Актуальність. Дефіцит вітаміну D є поширеним серед населення багатьох країн світу. Дослідження свідчать, що рівень дефіциту вітаміну D серед вагітних варіюється від 26% до 98%, а понад 66% жінок у різних країнах мають його недостатній рівень. Незважаючи на відмінності в показниках дефіциту залежно від регіону, загалом дефіцит вітаміну D у вагітних негативно впливає на перебіг вагітності, підвищуючи ризики ускладнень і перинатальних втрат [1-4].

Концентрація кальцитріолу у матері продовжує зростати у другому та третьому триместрах вагітності. Загалом, ці спостереження можуть свідчити про те, що підвищення рівня кальцитріолу в першому триместрі може бути пов'язане в основному з некальціємічним ефектом цього гормону, а його підвищення в другій половині вагітності може пояснити, принаймні частково, більш високе всмоктування кальцію в кишечнику відповідно до потреби плода. Протягом останнього триместру

вагітності відбувається більша частина мінералізації кісток скелета плоду. У цей період потреба матері в кальції зростає. Цікаво, що материнський циркулюючий рівень кальцитріолу зростає паралельно, що покриває потреби матері та плоду у вітаміні D. WangHetal. (2023), стверджують що протягом вагітності зміна вмісту вітаміну D проходить три фази: швидке підвищення, плато та наступне зниження. Імовірність дефіциту вітаміну D була найвищою у вагітних жінок віком до 25 років із гестаційним віком <20 тижнів і найнижчою у вагітних старше 35 років із гестаційним віком від 20 до 30 тижнів. Імовірність дефіциту дещо зростає у вагітних із гестаційним віком понад 30 тижнів, що вказує на те, що вони можуть потребувати додаткових добавок вітаміну D [5].

Вміст 25-(OH)D <20 нг/мл визначається як дефіцит вітаміну D, 21–30 нг/мл як недостатній і понад 30 нг/мл як достатній рівень. [6].

Люди отримують вітамін D переважно шляхом ендогенного синтезу провітаміну D₃ та вітаміну D₃ у шкірі з подальшими перетвореннями в печінці та нирках. Під впливом ультрафіолетового випромінювання типу В (UVB) 7-дегідрохолестерин у шкірі перетворюється на провітамін D₃, який під дією тепла трансформується у вітамін D₃. Невелика кількість вітаміну D також може надходити з їжею у вигляді вітамінів D₂ та D₃.

Вітаміни D₂ і D₃ двічі гідроксильються в організмі: спочатку в печінці ($D_2/D_3 \rightarrow 25(OH)D_3$), а потім у нирках ($25(OH)D_3 \rightarrow 1\alpha,25(OH)_2D_3$), утворюючи біологічно активну форму вітаміну D, $1\alpha,25(OH)_2D_3$. Ця активна форма здійснює свою біологічну дію через ядерні рецептори вітаміну D (VDR), які взаємодіють з ретиноїд X-рецепторами (RXR) у ядрі клітин. Гетеродимери VDR/RXR зв'язуються з елементами відповіді на вітамін D (VDRE) у промоторних ділянках генів, що регулюються вітаміном D, і стимулюють експресію відповідних генів.

Окрім цього, VDR також знаходиться в плазматичних мембранах, де при взаємодії з лігандом активує внутрішньоклітинну сигнальну трансдукцію, що є частиною ширших фізіологічних процесів [7-8].

Вітамін D має імуномодулюючу дію під час вагітності та після неї [9-11], включаючи підтримку толерантності та сприяння захисному імунітету [12]. Одним із ключових факторів, які призводять до ускладнень вагітності внаслідок дефіциту вітаміну D, є порушення в роботі плаценти. Вітамін D відіграє важливу роль у численних процесах в організмі вагітної жінки, зокрема у проліферації та диференціації клітин, імунній відповіді, а також модуляції запалення й окисного стресу. Він проникає через плаценту, впливаючи на її розвиток і функції [13-15].

У ранніх репродуктивних втратах кальцитріол, як було показано, викликає специфічні біологічні ефекти, такі як регуляція процесів децидуалізації та імплантації [16].

Великі акушерські синдроми, такі як преєклампсія, затримка розвитку плода та передчасні пологи, мають спільні патофізіологічні риси й залежать від тяжкості плацентарних порушень, що лежать в їх основі [17].

Протягом останніх десятиліть досліджуються дії вітаміну D, пов'язаних із регуляцією генів [18,19], ендотеліальної функції.

Останні дослідження демонструють, що ядерний фактор κB (NF- κB) є складним транскрипційним фактором, який відіграє важливу роль як у нормальних фізіологічних процесах, так і у патологічних, регулюючи синтез понад 400 біологічно активних молекул, включно з цитокінами, хемокінами, імунними рецепторами, білками гострої фази, антиген-презентуючими білками, факторами росту тощо. Зазвичай NF- κB складається з п'яти субодиниць: NF- $\kappa B1$, NF- $\kappa B2$, p65 (RelA), RelB та c-Rel, кожна з яких має свої специфічні функції. Субодиниця p65 відрізняється тим, що в неактивному стані знаходиться у цитоплазмі, зв'язана зі своїм інгібітором, а після активації переміщується в ядро клітини, де впливає на транскрипцію генів, контролюючи передусім запальні процеси та імунну відповідь, що є критично важливим під час вагітності. Вивчення цього фактору є актуальним, особливо при виникненні плацентарних ускладнень. Дослідження субодиниці p65 ядерного фактору NF- κB (p65 NF- κB) включало аналіз вмісту

загального білка p65 (p65 NF- κ B tot) та його фосфорильованої форми (p65 NF- κ B phos) у лізатах клітин плацент жінок з досліджуваної та контрольної груп, а також визначення активності транскрипційного фактора шляхом розрахунку співвідношення між загальною і фосфорильованою формами p65 (p65 NF- κ B phos/ p65 NF- κ B tot) [20, 21].

Ціль: вивчити вплив гіповітамінозу D на активність p65-субодиниці ядерного фактора κ B в патогенезі плацентарної дисфункції, що виникла на фоні прееклампсії, передчасних пологів, затримки розвитку плода.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідженні взяли участь 135 жінок, які спостерігалися та народжували в КНП «Перинатальний центр м. Київ». В основну групу були залучені 105 вагітних жінок з підтвердженим діагнозом плацентарної дисфункції. В залежності від рівня вітаміну D, дані вагітні були розподілені на групи: I група – 70 жінок з дефіцитом вітаміну D (концентрація 25(OH) D менше 20 нг/мл), II група – 35 жінок з недостатністю вітаміну D (концентрація 25(OH) D від 20 до 30 нг/мл). До контрольної групи увійшли 30 жінок з фізіологічним перебігом вагітності та нормальними терміновими пологами без ускладнень.

Критеріями включення були вагітні, з одноплідною вагітністю, підтвердженим діагнозом плацентарної дисфункції та гіповітамінозом D, що не приймали препаратів кальцію та вітаміну D. До критерій виключення належали жінки з багатоплідною вагітністю, обтяженою соматичною патологією та прийомом вітаміну D, як на прегравідарному етапі, так і під час вагітності.

Дослідження рівня 25(OH)D у сироватці крові вагітних жінок проводили у клініко-діагностичній лабораторії КНП «Перинатальний центр м.Києва». Концентрацію 25(OH)D визначалася методом імуноферментного аналізу (ІФА), використовуючи набір реагентів Monobind (США) та мікропланшетний зчитувач Sinnova ER 500 (Китай). Оцінка концентрацій 25(OH)D проводилася відповідно до ді-

апазонів, рекомендованих виробником набору реагентів Monobind. Концентрації 25(OH)D у сироватці крові вагітних нижче 20 нг/мл вважали дефіцитом вітаміну D, 20-30 нг/мл – недостатність вітаміну D та концентрація 25(OH) D >30 нг/мл є оптимальним рівень вітаміну D.

Підвищення рівня альфа-фетопротейну, знижені рівні хоріонічного гонадотропіну, асоційованого з вагітністю білка та рівні некон'югованого естріолу під час скринінгу I та II триместру вагітності є прогностичними маркерами плацентарних порушень. Остаточний діагноз плацентарних порушень встановлювали вагітним на підставі знижених рівнів плацентарного лактогену, прогестерону, плацентарної лужної фосфатази.

Методом імуноферментного аналізу RayBio Human Procalcitonin ELISA (RayBiotech, Inc. США) на аналізаторі "StatFax 303 Plus" проводили визначення активності p65-субодиниці NF- κ B у клітинних лізатах плаценти.

Для визначення p65NF- κ B використовували набір Phospho-NF- κ B P65 (Ser536) and Total NF- κ B P65 ELISA Kit. Лізати плаценти готували згідно з інструкцією до реагентів: після промивання фосфатним буфером і відбору зразка плаценти масою приблизно 50 г одночасно брали тканини з материнської та плодової поверхонь, уникаючи зон кальцифікації або згустків. Після видалення буферу тканину подрібнювали й інкубували з лізатним буфером на шейкері 30 хвилин при 2-8°C. Далі матеріал центрифугували при 13000 об./хв. протягом 10 хвилин без зміни температури, видаляли супернатант. Лізати використовували негайно або зберігали при -70°C до подальшого аналізу. Активність білків оцінювали як відсоткове співвідношення між загальним і активованим протеїном, відповідно до методики. Статистичну обробку даних виконували за допомогою програм MedStat v.5.2 та EZR v.3.4.1. Спочатку перевіряли нормальність розподілу отриманих даних із використанням критерію Шапіро-Уїлка, після чого застосовували метод множинних порівнянь за ранговим однофакторним аналізом Крускала-Волліса. Статистичну значущість визначали при $p < 0,05$.

Щоб усунути ко-факторний вплив різних

чинників на результати дослідження, були визначені критерії виключення. До них віднесено вагітність, що настала внаслідок використання допоміжних репродуктивних технологій, багатопліддя, гострі запальні захворювання під час вагітності, а також тяжка супутня патологія.

Дослідження проведено відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження схвалено місцевим комітетом з етики закладу-учасника. На проведення досліджень отримано інформовану згоду пацієнток.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під час дослідження концентрації загального та фосфорильованого p65 NF-kB, а також розрахунку показника активності, було виявлено достовірну різницю між I групою та контрольною групою ($p < 0,05$), (табл. 1).

Враховуючи відсутність чітких літературних даних щодо ролі впливу вітаміну D на активацію p65-субодиниці NF-kB при плацентарних порушеннях, цікавим було вивчити його роль при різних клінічних проявах, зокрема прееклампсії, затримці розвитку плода та передчасних пологах.

Клінічні прояви плацентарної дисфункції, такі як затримка росту плода (ЗРП), прееклампсія (ПЕ) та передчасні пологи (ПП) були зафіксовані у третини жінок з дефіцитом вітаміну D. Це супроводжувалося змінами гормональної функції плаценти – зниженням рівня проге-

стерону та стабілізацією рівня плацентарного лактогену, що відрізнялося від показників у вагітних з оптимальним рівнем вітаміну D. Морфологічні ознаки плацентарної дисфункції, такі як аномальне дозрівання ворсинчастого дерева, множинні інфаркти, крововиливи, відкладення фібриноїду, порушення васкуляризації ворсин, а також різні ступені компенсаторно-приспосувальних реакцій та склерозування судин, були виявлені у 24 (43,1%) випадках жінок з дефіцитом вітаміну D.

Для жінок з плацентарними порушеннями були характерні найвищі значення як загальної p65 NF-kB (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 дефіцитом вітаміну D менше 20 нг/мл, то значення всіх трьох показників у них (загального p65 NF-kB – медіана 63,1 пг/мл, 95 % ДІ: 59,9–64,2; фосфорильованого p65 NF-kB – медіана 21,5 пг/мл, 95 % ДІ: 19,9–22,3; активність p65 NF-kB – медіана 33,8 пг/мл, 95 % ДІ: 31,2–35,2) відрізнялися від показників групи контролю (p65 NF-kB заг.: медіана 50,3 пг/мл, 95 % ДІ: 49,6–51,8; p65 NF-kB фосф.: медіана 14,0 пг/мл, 95 % ДІ: 13,2–14,6; p65 NF-kB акт. медіана 27,3 пг/мл, 95 % ДІ: 26,4–28,6) на рівні достовірності $p < 0,05$. При порівнянні між групами з дефіцитом вітаміну D та недостатністю, достовірності не виявлено $p > 0,01$ (табл.1.)

Таблиця 1

Рівні p65 NF-kB та ступінь його активності в залежності від рівня вітаміну D ($M \pm m$)

Групи	Вміст загального p65 NF-kB, пг/мл			Вміст фосфорильованого p65 NF-kB, пг/мл			Ступінь активності p65 NF-kB, %		
	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3
I група	69,5*	66,2	71,1	40,6*	38,7	43,0	59,2*	57,2	60,1
II група	51,4**	50,7	55,2	20,7**	19,0	22,0	39,5**	37,9	41,3
Контрольна група	41,1	39,5	42,3	12,8	12,1	13,6	31,2	29,8	33,6

Примітки:

* – $p < 0,05$ при порівнянні основної з контрольною групою;

** – $p < 0,01$ при порівнянні II групи з контрольною.

Таким чином, у жінок із дефіцитом вітаміну D (менше 20 нг/мл) спостерігається підвищена активність фактору p65 NF-kB в плаценті.

Для уникнення взаємодії між чинниками, що впливають на результати дослідження, було вивчено кількісний склад загального p65 NF-kB, загального фосфорильованого p65 NF-kB, а також рівень активності p65 NF-kB при плацентарній дисфункції, зумовленої прееклампсією, затримкою розвитку плода та передчасними пологам (табл.2.).

Під час дослідження концентрації загального та фосфорильованого p65 NF-kB, а також показника активності p65 NF-kB, було виявлено достовірну різницю між I групою (жінки з дефіцитом вітаміну D) та контрольною групою (жінки з оптимальним рівнем вітаміну D) ($p<0,05$). Ці результати узгоджуються з висновками ряду інших авторів, які також показали вплив дефіциту вітаміну D на активацію NF-kB, що відіграє ключову роль в імунних реакціях та запальних процесах [22].

На сьогодні визначено три основні сигнальні шляхи активації NF-kB: класичний, неканонічний (альтернативний) та атиповий. Усі вони залежать від послідовної активації кі-

наз, утворення димерів NF-kB та підсилення транскрипційної активності. Основним регулятором є комплекс кіназ IκB (IKK), що складається з двох кіназ (IKKα і IKKβ) та регуляторної субодиниці NEMO. Активовані кінази розщеплюються вивільняючи комплекс p65/p50, який мігрує в ядро та впливає на транскрипцію ДНК. Класичний шлях активується бактеріальними ліпополісахаридами, що призводить до убіквітинізації та деградації IKKβ, після чого IκB-α вивільняє p65/p50. Неканонічний шлях активується індукторами, такими як лімфотоксин β і фактор активації В-клітин, і призводить до деградації IKKα та фосфорилування p100, активуючи димер p100/RelB. Атиповий шлях запускається пошкодженням ДНК і не залежить від рецепторів або комплексу IKK, наприклад, при впливі ультрафіолетового випромінювання відбувається фосфорилування IκB-α кazeїнкіназою 2, що веде до активації NF-kB. Таким чином, різноманітність результатів активації NF-kB залежить від типу кіназ, активаторів і субодиниць NF-kB [20-22].

Згідно з роботами Gurkan et al. (2020) та Fantini et al. (2023), вітамін D впливає на активність NF-kB, пригнічуючи його запальну

Таблиця 2

Рівні p65 NF-kB у жінок з дефіцитом вітаміну D при плацентарних порушеннях, %

Показник	Загальний p65 NF-kB, пг/мл			Фосфорильований p65 NF-kB, пг/мл			Активність p65 NF-kB, %		
	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3
Прееклампсія n=27	64,8 *	65,4	61,1	23,6 *	21,3	29,9	52,7*	49,9	53,4
Затримка розвитку плода n=20	62,2*	60,7	64,2	28,8 *	24,8	32,1	55,8*	54,1	57,2
Передчасні пологи n=23	61,2*	58,7	63,4	25,8 *	24,2	27,5	59,6*	58,2	62,3
Контрольна група 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 співставленні групи з прееклампсією, затримкою розвитку плода та передчасними пологам з контрольною групою.

активацію [23, 24]. В даному дослідженні було продемонстровано, що жінки з дефіцитом вітаміну D мали підвищені рівні як загально-го, так і фосфорильованого p65 NF-kB, а також вищі показники активності NF-kB у порівнянні з контрольною групою. Це підтверджує дані попередніх досліджень, які показують, що дефіцит вітаміну D асоціюється з підвищеним ризиком запалень та патологій, зокрема при плацентарних порушеннях.

Результати дослідження підтверджують, що у жінок з дефіцитом вітаміну D та плацентарними порушеннями (пreekлампсія, затримка розвитку плода та передчасні пологи) спостерігається значне підвищення рівнів p65 NF-kB та його активності. Це може бути пов'язано з підвищеною запальною реакцією в плаценті, що погоджується з роботами Kim et al. (2010), які виявили подібні механізми при пreekлампсії [25].

Наприклад, у жінок з пreekлампсією рівень загального p65 NF-kB досягав 64,8 пг/мл, що значно перевищувало показники контрольної групи (41,1 пг/мл). Схожі відмінності спостерігалися для фосфорильованого p65 NF-kB та активності білка. Це підтверджує думку, що дефіцит вітаміну D може сприяти розвитку запальних станів через активацію NF-kB, як зазначено у дослідженнях Symczak-Pajor et al. (2020) [26].

Клінічні прояви плацентарної дисфункції, такі як затримка росту плода, пreekлампсія та передчасні пологи, спостерігалися у значної частини жінок з дефіцитом вітаміну D. Це супроводжувалося змінами в рівнях прогестерону і плацентарного лактогену, що також вказує на гормональну дисфункцію плаценти. Подібні дані раніше описані в роботах Negri et al. (2020), які вказували на негативний вплив недостатності вітаміну D на функцію плаценти та розвиток ускладнень під час вагітності [27].

У порівнянні з результатами інших досліджень, що вивчали дефіцит вітаміну D і його вплив на плаценту, відзначаються аналогічні висновки щодо його ролі у запальних процесах і ризику розвитку патологій вагітності. Matias et al. (2020) показали, що дефіцит вітаміну D пов'язаний із підвищеною активацією

NF-kB та посиленими запальними реакціями у плаценті, що може спричиняти порушення її функції, а також впливати на ріст плода та стан матері [28].

Для остаточного з'ясування впливу гіповітамінозу D на активність p65 NF-kB необхідно провести масштабні популяційні дослідження. Проте виявлені у цьому дослідженні зміни можуть стати орієнтиром для подальшого діагностичного та клінічного вивчення механізмів розвитку плацентарних порушень при пreekлампсії, передчасних пологів, затримкою розвитку плода.

ВИСНОВКИ

1. Під час дослідження концентрацій загального та фосфорильованого p65 NF-kB, а також показника активності p65 NF-kB, було виявлено достовірну різницю між жінками з дефіцитом вітаміну D та контрольною групою ($p < 0,05$). Рівень p65 NF-kB значно підвищений у жінок із дефіцитом вітаміну D, що підтверджує його роль у запальних реакціях.
2. Підвищена активність p65 NF-kB у жінок з дефіцитом вітаміну D пов'язана з плацентарними порушеннями, зокрема пreekлампсією, затримкою розвитку плода та передчасними пологами. У цих пацієнток були виявлені значно вищі рівні загального та фосфорильованого p65 NF-kB, а також активності білка, що свідчить про активацію запальних процесів у плаценті.
3. Жінки з пreekлампсією мали найвищі показники загального p65 NF-kB (64,8 пг/мл) у порівнянні з контрольною групою (41,1 пг/мл), що вказує на взаємозв'язок між дефіцитом вітаміну D та запальними процесами в організмі.
4. Отримані результати підтверджують гіпотезу, що дефіцит вітаміну D сприяє активації запальних реакцій через підвищену активність NF-kB, що, у свою чергу, може бути причиною розвитку ускладнень вагітності, таких як пreekлампсія, затримка розвитку плода та передчасні пологи.

Перспективи подальших досліджень. Результати будуть використані у подальшому, зокрема у вивченні патогенезу вітаміну-D асоційованих гестаційних ускладнень.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Lin CH, Lin PS, Lee MS, Lin CY, Sung YH, Li ST, et al. Associations between Vitamin D Deficiency and Carbohydrate Intake and Dietary Factors in Taiwanese Pregnant Women. *Medicina* (Kaunas). 2023;59(1):107. DOI: 10.3390/medicina59010107.
2. Wang H, Zhang F, Li B, Fu M, Shan X, Ma Y. Three-stage pattern of rapid increase, plateau, and subsequent decline in vitamin D concentration during pregnancy among Chinese women: a large-scale survey. *Front Nutr.* 2023;10:1238389. DOI: 10.3389/fnut.2023.1238389.
3. Vestergaard AL, Christensen M, Andreasen MF, Larsen A, Bor P. Vitamin D in pregnancy (GRAVITD) - a randomised controlled trial identifying associations and mechanisms linking maternal Vitamin D deficiency to placental dysfunction and adverse pregnancy outcomes - study protocol. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2023;23(1):177. DOI: 10.1186/s12884-023-05484-x.
4. Abdallah HR, Abdelrazek AA, Youness ER, Orban HA, Mahmoud MA, El Sayed AH, et al. Assessment of vitamin status; A, E and D in Egyptian neonates with IUGR: a cross sectional study. *BMC Pediatr.* 2024;24(1):144. DOI: 10.1186/s12887-024-04624-2.
5. Wang H, Zhang F, Li B, Fu M, Shan X, Ma Y. Three-stage pattern of rapid increase, plateau, and subsequent decline in vitamin D concentration during pregnancy among Chinese women: a large-scale survey. *Front Nutr.* 2023;10:1238389. DOI: 10.3389/fnut.2023.1238389.
6. Mao D, Yuen LY, Ho CS, Wang CC, Tam CH, Chan MH, et al. Maternal and Neonatal 3-epi-25-hydroxyvitamin D Concentration and Factors Influencing Their Concentrations. *J Endocr Soc.* 2021;6(1). DOI: 10.1210/jeendo/bvab170.
7. Keane KN, Cruzat VF, Calton EK, Hart PH, Soares MJ, Newsholme P, et al. Molecular actions of vitamin D in reproductive cell biology. *Reproduction.* 2017;153(1). DOI: 10.1530/REP-16-0386.
8. Cyprian F, Lefkou E, Varoudi K, Girardi G. Immunomodulatory Effects of Vitamin D in Pregnancy and Beyond. *Front Immunol.* 2019;10:2739. DOI:10.3389/fimmu.2019.02739.
9. Meija L, Piskurjova A, Nikolajeva K, Aizbalte O, Rezgale R, Lejnieks A, et al. Vitamin D Intake and Serum Levels in Pregnant and Postpartum Women. *Nutrients.* 2023;15(15):3493. DOI: 10.3390/nu15153493.
10. Molani-Gol R, Rafrat M. Maternal vitamin D in pregnancy and infant's gut microbiota: a systematic review. *Front Pediatr.* 2023;11:1248517. DOI: 10.3389/fped.2023.1248517.
11. Schröder-Heurich B, von Hardenberg S, Brodowski L, Kipke B, Meyer N, Borns K, et al. Vitamin D improves endothelial barrier integrity and counteracts inflammatory effects on endothelial progenitor cells. *FASEB J.* 2019;33(8):9142-53. DOI: 10.1096/fj.201802750RR.
12. Rana S, Lemoine E, Granger JP, Karumanchi SA. Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. *Circ Res.* 2019;124(7):1094-112. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313276.
13. Vestergaard AL, Christensen M, Andreasen MF, Larsen A, Bor P. Vitamin D in pregnancy (GRAVITD) - a randomised controlled trial identifying associations and mechanisms linking maternal Vitamin D deficiency to placental dysfunction and adverse pregnancy outcomes - study protocol. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2023;23(1):177. DOI: 10.1186/s12884-023-05484-x.

14. Aouache R, Biquard L, Vaiman D, Miralles F. Oxidative Stress in Preeclampsia and Placental Diseases. *Int J Mol Sci.* 2018;19(5):1496. DOI: 10.3390/ijms19051496.
15. Luo R, Wang J, Yang Y, Xu C, Yang M, Zhu D, et al. The role of serum vitamin D in patients with normal ovarian reserve undergoing the first IVF/ICSI cycle. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023;14:1249445. DOI: 10.3389/fendo.2023.1249445.
16. Farhangnia P, Noormohammadi M, Delbandi AA. Vitamin D and reproductive disorders: a comprehensive review with a focus on endometriosis. *Reprod Health.* 2024;21(1):61. DOI: 10.1186/s12978-024-01797-y.
17. 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.
18. Wu J, Shao B, Xin X, Luo W, Mo M, Jiang W, et al. Association of vitamin D pathway gene polymorphisms with vitamin D level during pregnancy was modified by season and vitamin D supplement. *Clin Nutr.* 2021;40(5):3650-60. DOI: 10.1016/j.clnu.2020.12.029.
19. Anatolou D, Steiropoulos P, Zissimopoulos A, Chadia K, Archontogeorgis K, Kolios G, et al. Polymorphisms in LRP2 and CUBN genes and their association with serum vitamin D levels and sleep apnea. *Sleep Breath.* 2023. DOI: 10.1007/s11325-023-02950-w.
20. Wang S, Xin X, Luo W, Mo M, Si S, Shao B, et al. Association of vitamin D and gene variants in the vitamin D metabolic pathway with preterm birth. *Nutrition.* 2021;89:111349. DOI: 10.1016/j.nut.2021.111349.
21. Trefilio LM, Bottino L, de Carvalho Cardoso R, Montes GC, Fontes-Dantas FL. The impact of genetic variants related to vitamin D and autoimmunity: A systematic review. *Heliyon.* 2024;10(7). DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e27700.
22. Ma Y, Yang Y, Lv M, Zhang Y, He Q, Zhang Y, et al. 1,25(OH)₂D₃ alleviates LPS-induced preeclampsia-like rats impairment in the protective effect by TLR4/NF-κB pathway. *Placenta.* 2022;130:34-41. DOI: 10.1016/j.placenta.2022.10.012.
23. Gurkan N. Vitamin D supplementation during pregnancy inhibits the activation of fetal membrane NF-κB pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022;26(16):5926-31. DOI: 10.26355/eurrev_202208_29532.
24. Fantini C, Corinaldesi C, Lenzi A, Migliaccio S, Crescioli C. Vitamin D as a Shield against Aging. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023; 24(5):4546. <https://DOI.org/10.3390/ijms24054546>
25. Kim DH, Meza CA, Clarke H, Kim JS, Hickner RC. Vitamin D and Endothelial Function. *Nutrients.* 2020;12(2):575. DOI: 10.3390/nu12020575.
26. Symczak-Pajor I, Drzewoski J, Śliwińska A. The Molecular Mechanisms by Which Vitamin D Prevents Insulin Resistance and Associated Disorders. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020; 21(18):6644. DOI: 10.3390/ijms21186644
27. Negri M, Gentile A, de Angelis C, Montò T, Patalano R, Colao A, Pivonello R, Pivonello C. Vitamin D-Induced Molecular Mechanisms to Potentiate Cancer Therapy and to Reverse Drug-Resistance in Cancer Cells. *Nutrients.* 2020; 12(6):1798. DOI: 10.3390/nu12061798
28. Matias ML, Romao-Veiga M, Ribeiro VR, Nunes PR, Gomes VJ, Devides AC, et al. Progesterone and vitamin D downregulate the activation of the NLRP1/NLRP3 inflammasomes and TLR4-MyD88-NF-κB pathway in monocytes from pregnant women with preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2021;144:103286. DOI: 10.1016/j.jri.2021.103286.

Article history:

Received: 25.08.2024

Revision requested: 28.08.2024

Revision received: 10.10.2024

Accepted: 25.12.2024

Published: 30.12.2024

THE IMPACT OF VITAMIN D DEFICIENCY ON P65 NF-KB ACTIVITY IN THE PATHOGENESIS OF PLACENTAL DYSFUNCTION

Poladich I.V.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

iren.poladich@gmail.com

Aim: to study the role of vitamin D in the activation of nuclear factor κ B (NF- κ B) as a factor in the development of placental disorders.

Materials and methods. The study involved 135 women who were observed and gave birth at the Municipal Non-Profit Enterprise "Perinatal Center of Kyiv." The research was conducted as a case-control study, including 105 pregnant women in the main group with placental dysfunction (Group I – 70 women with vitamin D deficiency below 20 ng/ml, Group II – 35 women with vitamin D deficiency between 20 and 30 ng/ml) and 30 women in the control group with a physiological course of pregnancy and uncomplicated term deliveries. The concentration of 25(OH)D in the blood of pregnant women was measured using the immunoassay method with a Monobind reagent kit (USA) and a Sinnova ER 500 microplate reader (China). The determination of p65 NF- κ B was carried out using the RayBio Human Procalcitonin ELISA method (RayBiotech, Inc., USA) with the Phospho-NF- κ B P65 (Ser536) and Total NF- κ B P65 ELISA Kit. Statistical analysis of the data was performed using the MedStat v.5.2 and EZR v.3.4.1 software. Initially, the normality of the data distribution was checked using the Shapiro-Wilk test, followed by the application of multiple comparisons using the Kruskal-Wallis rank-based one-way analysis of variance. Statistical significance was determined at $p < 0.05$.

Results. The study revealed a significant difference in the levels of total and phosphorylated p65 NF- κ B protein between the groups of pregnant women with vitamin D deficiency and the control group ($p < 0.05$). In pregnant women with vitamin D deficiency, there was a marked increase in the levels of total p65 NF- κ B (median 69.5 pg/ml) and its activated form, indicating the activation of inflammatory processes in the placenta. Clinical manifestations of placental dysfunction, such as fetal growth restriction, preeclampsia, and preterm labor, were observed in one-third of the women with vitamin D deficiency. This was accompanied by changes in the hormonal function of the placenta (a decrease in progesterone and stabilization of placental lactogen) and morphological signs of placental abnormalities. The increase in p65 NF- κ B activity was highest in women with placental abnormalities, particularly preeclampsia, fetal growth restriction, and preterm labor, indicating a link between vitamin D deficiency and inflammation in the placenta.

Conclusion. Vitamin D levels below 20 ng/ml are associated with activation of the p65 NF- κ B factor, which correlates with placental dysfunction, regardless of pregnancy outcomes. This confirms the role of vitamin D deficiency in the activation of NF- κ B and the development of placental disorders.

Key words: p65 NF- κ B, vitamin D deficiency, pregnancy, placental dysfunction.