

Демченко Н.С., Башмакова Н.В., Третьякова Т.Б.

Патогенез невынашивания беременности: роль сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-A)

ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, г.Екатеринбург

Demchenko N.S., Bashmakova N.V., Tretyakova T.B.

Pathogenesis of the pregnancy loss: role of the vascular endothelial growth factor (VEGF-A)

Резюме

В обзоре изложен патогенез действия сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), VEGF рецептора-1 (Flt-1), VEGF рецептора-2 (KDR/Flk-2) на процессы имплантации плодного яйца, инвазии хориона, развития плаценты на ранних сроках беременности. Представлены данные по ангиогенной активности и экспрессии VEGF и рецепторов VEGF у женщин с привычным невынашиванием беременности, преэклампсией и другими осложнениями беременности.

Ключевые слова: невынашивание беременности, сосудисто-эндотелиальный фактор роста, экспрессия, генетический полиморфизм

Summary

The review deals with pathogenesis of the vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF receptor-1 (Flt-1) and VEGF receptor-2 (KDR/Flk-2) influence to the implantation processes of the fertilized ovum, chorionic invasion, placenta development in the early stage of pregnancy. There are presented data of the VEGF, VEGF receptors angiogenic activity and expression and of the genetic polymorphisms VEGF, VEGF receptors in women with recurrent pregnancy loss, pre-eclampsia and other pregnancy-associated complications.

Key words: pregnancy loss, vascular endothelial growth factor, expression, genetic polymorphisms

Современные представления об этиологии и патогенеза невынашивания беременности

Проблема невынашивания беременности продолжает оставаться актуальной и социально значимой в практике акушера-гинеколога и заслуживает пристального внимания. Привычное невынашивание беременности - это спонтанная потеря двух и более беременностей до 20 недель гестации. Привычный спонтанный аборт является типичной проблемой около 1% супружеских пар, планирующих рождение ребенка [1].

Этиология невынашивания беременности включает генетический, эндокринный, инфекционный, анатомический, гематологический и аутоиммунный факторы. Однако, примерно в 50% случаев привычного невынашивания причина остается до конца невыясненной [2, 3].

Важную роль в этиологии невынашивания беременности играет преэклампсия, в основе которой лежит увеличение проницаемости эндотелия сосудов и других мембран и связанных с этим волевических и гемодинамических нарушений. По данным Zuspan E. P. до 70% мертворождений и выкидышей сопровождаются преэклампсией. Риск невынашивания беременности на фоне преэклампсии возрастает в 5 раз [4, 5].

Согласно современным представлениям одним из компонентов патофизиологии преэклампсии являются расстройства маточно-плацентарного кровообращения, которые инициируются уже на ранних стадиях эмбриогенеза и являются следствием нарушений имплантации и плацентации [4]. Поэтому изучение факторов ангиогенеза представляет особый интерес в плане исследования этиологии и патогенеза невынашивания беременности.

Ангиогенез является критическим фактором нормального роста эмбриональных и постнатальных тканей, пролиферации эндометрия, созревания в яичнике фолликула и желтого тела.

Недавние исследования показали, что увеличение оксидативного стресса и дисбаланс между про- и антиангиогенными факторами, такими как сосудисто-эндотелиальный фактор роста (кодируемый геном VEGF-A) и растворимых рецепторов к VEGF-A (Flt-1, KDR/Flk-2, FLT-4), могут играть определенную роль в развитии эндотелиальной дисфункции [1, 6, 7].

Таким образом, недостаточная продукция VEGF-A может являться одной из причин спонтанного прерывания беременности, так как VEGF-A является важным фактором плацентации и инвазии трофобласта [4].

Эндометриальный ангиогенез, ремоделирование сосудов и формирование трофобласта регулируется ком-

плексом сигнальных молекул, который включает белки семейства VEGF, фактор роста фибробластов, эфрин, ангиопоэтины и их специфические рецепторы.

Семейство белков сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) включает в себя ряд белков: плацентарный фактор роста (PlGF) и шесть различных типов сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F). Плацентарный фактор роста (PlGF), необходимый для формирования сосудов при ишемических и воспалительных процессах, заживлении ран и опухолевом ангиогенезе, продуцируется в плаценте, миокарде и легочной ткани [8]. В постнатальном периоде VEGF-B продуцируется в миокарде, поперечно-полосатых мышцах и бурой жировой ткани. С возрастом его продукция снижается, тесно коррелируя с формированием сосудов в миокарде. Так же VEGF-B участвует в образовании коллатеральных сосудов при повреждении миокарда [10].

VEGF-C и VEGF-D участвуют в формировании лимфатических сосудов [11].

В настоящее время считается, что VEGF-A играет наиболее важную роль как в физиологическом циклическом ангиогенезе эндометрия, так и в патологическом ангиогенезе при росте опухолей, заживлении ран, хроническом воспалении [12, 13, 14].

Среди белков семейства VEGF фактор роста VEGF-A является самым мощным проангиогенным протеином и играет ключевую роль в регулировании ангиогенеза. Ген VEGF-A расположен на коротком плече 6 хромосомы (6p21.1), состоит из 6 экзонов и 5 интронов, его длина составляет 16 270 пар нуклеотидов. Известно 9 изоформ VEGF-A, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга м-РНК, кодируемой геном VEGF-A. Изоформы VEGF-A (VEGF-A111, VEGF-A121, VEGF-A145, VEGF-A148, VEGF-A162, VEGF-A165, VEGF-A183, VEGF-A189, VEGF-A206) состоят из различного количества аминокислотных остатков в пептидной цепи и отличаются по способности взаимодействовать с гепарином, по митотическому потенциалу, хематоксическим свойствам, по характеру связывания рецепторов и тканеспецифичной экспрессии [15].

Изоформы, содержащие 121, 145, 165 аминокислотных остатков секретируются или диффундируют в межклеточный матрикс. Более длинные изомеры VEGF-A, содержащие 183, 189, 206 аминокислотных остатков, фиксированы гепарином и другими протеинами на клеточных мембранах [15].

В последних исследованиях описан ряд новых b-изоформ VEGF-A (111b, 121b, 145b, 165b, 183b, 189b, 206b), обладающих более низкой активностью [17, 18]. Доминирующей изоформой является VEGF-A165 как по митогенному потенциалу, так и по выраженности экспрессии в тканях [19].

Рецепторы белков семейства VEGF

Все представители семейства VEGF (VEGF-A, B, C, D, E, F и PlGF) реализуют биологическое действие через взаимодействие со специфическими рецепторами,

тирозин-киназами: рецептор-1 VEGF (Flt-1), рецептор-2 (KDR/Flk-1), рецептор-3 (FLT-4), все из которых экспрессируются в эндотелии кровеносных и лимфатических сосудов. Рецепторы Flt-1, KDR, обладающая высокой аффинностью, играют роль основных медиаторов VEGF-A в эндотелиальных клетках [1, 20, 21].

Рецептор-1(Flt-1) экспрессируется в меньшем числе копий, чем рецептор-2 (KDR/Flk-1), но имеет приблизительно десятикратно более высокую аффинность к VEGF-A.

Растворимые формы рецепторов VEGF-A являются не только инструментами реализации сигнального пути, но и регулируют активность фактора роста VEGF-A. В то же время VEGF-A регулирует экспрессию собственных рецепторов. В итоге, высоко аффинный рецептор Flt-1 может выступать антагонистом VEGF-A и подавлять его ангиогенную роль [22].

Механизмы функционирования VEGF-A и его рецепторов в эндотелиальных клетках недостаточно изучены. Гипоксия стимулирует ангиогенез через увеличения экспрессии белка VEGF-A. Одновременно увеличивается экспрессия рецептора Flt-1 и снижается продукция рецептора KDR [13]. Избыточное накопление VEGF-A и рецептора Flt-1 после наступления баланса супероксидных анионов в условиях гипоксии запускает процессы саморегуляции. Рецептор Flt-1 играет роль антагониста, соединяется с VEGF-A, снижая, таким образом, уровень VEGF-A, способного активировать ангиогенез [23].

С рецептором KDR VEGF-A чаще образует внутриклеточный комплекс, снижая функциональную активность рецептора [24]. Рецептор KDR играет роль основного внутриклеточного медиатора VEGF-A в эндотелиальных клетках [25,26].

Роль VEGF-A и его рецепторов в эмбриогенезе.

Рост и развитие плода зависят от функции плаценты и, главным образом, от плацентарного кровообращения. В свою очередь правильное развитие плаценты определяется содружественным взаимодействием сосудистых факторов роста и их рецепторов [27, 28].

VEGF-A в эндотелии сосудов отвечает за два основных события: увеличение проницаемости сосудов и пролиферацию эндотелиальных клеток, оба события необходимы для успешного развития эмбриона. Увеличение проницаемости сосудов обеспечивает выход из сосудов плазменных белков (фибронектина, витронектина, фибриногена, факторов коагуляции), которые способствуют формированию «защепок» для миграции эндотелиальных и гладкомышечных клеток.

Исследования показали, что имплантация эмбриона и развитие беременности ранних сроков происходит в условиях гипоксии (2-3% O₂) [28].

Гипоксия является основным фактором, стимулирующим продукцию VEGF-A и рецептора-1 VEGF-A (Flt-1) в плаценте, которые необходимы для контроля оксидативного стресса и предотвращения дисфункции эндотелия [30, 31]. Чрезмерная продукция рецептора-

1 (Flt-1) после наступления баланса супероксидных анионов влечет за собой эндотелиальную дисфункцию, которая может стать причиной спонтанного выкидыша [23].

Повышенная продукция рецептора Flt-1 может являться следствием изначально неадекватного фетоплацентарного ангиогенеза и накопленной плацентарной ишемии [31, 32]. В результате накопления, Flt-1 начинает играть роль «токсического фактора» эндотелиальной дисфункции, связывая излишнее количество VEGF-A, тем самым уменьшая концентрацию свободного VEGF-A, способного активировать ангиогенез и регулировать функционирование эндотелия [33].

Таким образом, увеличение экспрессии Flt-1 играет главную роль в эндотелиальной дисфункции, которая ассоциирована с ухудшением цитотрофобластической инвазии и участвует в патогенезе спонтанного выкидыша [24].

В ряде работ установлено, что экспрессия VEGF-A и рецептора Flt-1 повышена в тканях хориона и в крови женщин со спонтанным выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе [1], а также у женщин с осложнениями беременности, обусловленными дисфункцией эндотелия фетоплацентарного комплекса, включая гипертензию, задержку внутриутробного развития плода, преэклампсию и эклампсию, вращание плаценты [23, 32, 34, 35, 36, 37, 38].

Проведено большое количество исследований, в которых установлена связь между различными осложнениями беременности (преэклампсия, HELLP-синдром, привычное невынашивание беременности, преждевременные роды) и некоторыми аллельными вариантами генов VEGF-A и FLT-1, обуславливающих снижением уровня продукта гена в крови [16, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47].

Обнаружено несколько вариантов однонуклеотидных замен гена VEGF-A: rs699947 (-2578C/A), rs3025039

(936C/T), rs2010963 (405G/C), rs833061 (C460T), rs15703060 (-1154G/A), rs2010963 (634G/C), rs10434 (A/G), rs3025010 (C/T), rs3025000 (C/T), ассоциированных с акушерскими осложнениями. Наиболее изученным из которых является полиморфизм VEGF-A 936C/T. Аллель 936T ассоциирован со снижением экспрессии гена в крови и плацентарной ткани женщин [49, 50].

Анализ современных исследований убеждает, что дисбаланс про- и антиангиогенных факторов семейства VEGF играет роль в ряде осложненных беременностей. Тем не менее, не смотря на множество изученных факторов ангиогенеза, патогенез плацентарной ишемии остается до конца не изученным.

Можно предположить, что изначальная генетическая предрасположенность к сниженной продукции фактора VEGF-A и его рецепторов создает условия для неадекватного ангиогенеза, длительной плацентарной гипоксии, приводящих к оксидативному стрессу. Побочным явлением восстановления баланса супероксидных анионов является гиперпродукция рецептора-1 VEGF-A (FLT-1) и подавление ангиогенной функции VEGF-A.

Специфичность этих процессов, временные рамки суперэкспрессии факторов роста сосудов и механизмы управления этими процессами требует дальнейшего изучения.

Демченко Н.С. – врач лабораторной генетики, заочный аспирант ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, г. Екатеринбург. Башмакова Н.В. – д.м.н., профессор, Заслуженный врач РФ, заместитель директора по НИР ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, г. Екатеринбург. Третьякова Т.Б. – к.м.н., старший научный сотрудник отделения биохимических методов ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку – Демченко Надежда Сергеевна, 620109, г. Екатеринбург, ул. Пенина, 17-225, тел. 9045405056, факс (343) 371-87-73, medichkaN@mail.ru.

Литература:

1. L-H Pang, M-J Li, M-Q Li, D-M Yang, L Shi. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and the VEGF soluble receptor-1(sFlt-1) in chorionic villus tissue from chinese women with early recurrent spontaneous abortion. The Journal of Internetinal Medicl Researcy 2011; 39: 830-837.
2. Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. Rev Obstet Gynecol 2009; 2: 76-83.
3. Nielsen HS, Steffensen R, Lund M et al. Frequency and impact of obstetric complications prior and subsequent to unexplained secondary recurrent miscarriage. Hum Reprod 2010; 25: 1543-1552
4. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития: научно-практические аспекты. СПб.: Издательство Н-Л; 2007.
5. Fisher S.J., The placental problem: linking abnormal cytotrophoblast to the maternal symptoms of preeclampsia. Reprod Biol Endocrinol 2004; 53.
6. Bahtiyar M.O., Buhimschi C., Ravishankar V. et al. Contrasting effects of chronic hypoxia and nitric oxide synthase inhibition on circulating angiogenic factors in a rat model of growth restriction. Am J Obstet Gynecol 2007; 196: 72-72.
7. Cindrova-Davies T., Yung H-W., Johns J., Spasic-Boskovic O. et al. Oxidative stress, gene expression and protein changes induced in the human placenta during labor. Am J Path 2007; 171: 1168-1179.
8. Oura H. et al. A critical role of placental growth factor in the induction of inflammation and edema formation. Blood 2003; 101(2): 560-7.
9. Claesson-Welsh L. VEGF-B Taken to Our Hearts: Specific Effect of VEGF-B in Myocardial Ischemia. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2008; 28 (9): 1575-1576.
10. Mould A.W. et al. VEGF-B gene knockout mice display reduced pathology and synovial angiogenesis in both antigen-induced and collagen-induced models of arthritis. Arthritis Rheum 2003; 48(9): 2660-9.
11. Karkkainen M.J. et al. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. Nat Immunol 2004; 5(1): 74-80.
12. Бурлев В.А., Ильясова Н.А., Шляжанова О.А. Циклический ангиогенез эутопического эндометрия. Проблемы репродукции 2006; 6: 22-30.

13. Nady J.A., Dvorak N.F. VGF-A and the induction of pathological angiogenesis. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2007; 2: 251-75.
14. Lee S., Chen T.T., Barber C.L., Jordan M.C., Murdock J., Desai S., Ferrara N. et al. *Cell* 2007; 130(4): 691-703.
15. Бурулев В.А., Ильясова Н.А., Саркисов С.Э. Ангиогенные факторы роста в структурных компонентах эндометрия: роль СЭРФ-A165 при эндометриальной гиперплазии. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2012; 11(1): 11-19.
16. Трифонова Е.А., Едачева А.А., Павлова К.К. и др. Анализ ассоциации tagSNPs гена VEGF с развитием гестоза в популяциях различного этнического происхождения. *Медицинская генетика* 2012; 11 (115): 28-35.
17. Catena R., Larzabal L., Larayoz M. et al. VEGF121band VEGF165bare weakly angiogenic isoforms of VEGF-A. *Molecular Cancer* 2010; 9: 320-34.
18. Woolard J. et al. VEGF165b, in inhibitory vascular endothelial growth factors plice variant: mechanism of action, in vivo effect on angiogenesis and endogenous protein expression. *Canc Res* 2004; 64: 7822-35.
19. Nady J.A., Dvorak A.M., Dvorak H.F. VEGF-A and the induction of pathological angiogenesis. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2007; 2: 251-75.
20. Shibuya M., and Claesson-Welsh L. *Exp Cell Res* 2006; 312(5): 549-560
21. Sugimoto H., Hamano Y., Charytan D. et al. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *J Biol Chem* 2003; 278: 12605-12608.
22. Kappas N.C., Zeng G., Chappell J.C. et al. The VEGF receptor Flt-1 spatially modulates Flk-1 signaling and blood vessel branching. *J Cell Biol* 2008; 181: 847-858.
23. McKeeman G.C., Ardill J.E., Caldwell C.M. et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout gestation in patients who have preeclampsia develop. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 1240-1246.
24. Guangqi E., Ying Cao, Santanu Bhattacharya, Shमित Dutta, Enfeng Wang and Debabrata Mukhopadhyay. Endogenous vascular endothelial growth factor (VEGF)-A maintains endothelial cell homeostasis by regulating VEGF receptor-2 transcription. *JBC Papers in Press* 2011.
25. Dvorak H. F. Angiogenesis: update 2005. *J Thromb Haemost* 2005; 3(8); 1835-1842
26. Shibuya M., Claesson-Welsh L. Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Exp Cell Res* 2006; 312: 549-560.
27. Burton G.J., Charnock-Jones D.S., Jauniaux E. Regulation of vascular growth and function in the human placenta. *Reproduction* 2009; 138: 895-902.
28. González-Pacheco F.R., Deudero J.J., Castellanos M.C. et al. Mechanisms of endothelial response to oxidative aggression: protective role of autologous VEGF and induction of VEGFR2 by H2O2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H1395-H1401.
29. Bridges J.P., Gilbert J.S., Colson D. et al. Oxidative stress contributes to soluble fms-like tyrosine kinase-1 induced vascular dysfunction in pregnant rats. *Am J Hypertens* 2009; 22: 564-568.
30. Burton G.J., Charnock-Jones D.S., Jauniaux E. Regulation of vascular growth and function in the human placenta. *Reproduction* 2009; 138: 895-902.
31. Makris A., Thornton C., Thompson J. et al. Uteroplacental ischemia results in proteinuric hypertension and elevated sFLT-1. *Kidney Int* 2007; 71: 977-984.
32. Nevo O., Soleymanlou N., Wu Y. et al: Increased expression of sFlt-1 in vivo and in vitro models of human placental hypoxia is mediated by HIF-1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 291: R1085-R1093.
33. Mutter W.P., Karumanchi S.A. Molecular mechanisms of preeclampsia. *Microvasc Res* 2008; 75: 1-8.
34. Ness R.B., Sibai B.M. Shared and disparate components of the pathophysiology of fetal growth restriction and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195: 40-49.
35. Arroyo J.A., Winn V.D. Vasculogenesis and angiogenesis in the IUGR placenta. *Semin Perinatol* 2008; 32: 172-177.
36. Makris A., Thornton C., Thompson J. et al. Uteroplacental ischemia results in proteinuric hypertension and elevated sFLT-1. *Kidney Int* 2007; 71: 977-984.
37. Mutter W.P., Karumanchi S.A. Molecular mechanisms of preeclampsia. *Microvasc Res* 2008; 75: 1-8.
38. Давыдов А.И., Арба И.Б., Волощук И.Н. Патогенез патологии прикрепления плаценты: роль факторов роста и других иммуногистохимических маркеров. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии* 2012; 11 (1): 48-53.
39. Park J.S., Baik H.W., Lee S.K. et al. Vascular endothelial growth factor, fms-like tyrosine kinase-1 (Flt-1) and soluble Flt-1 gene expression in Korean pre-eclamptic placentas. *J Obstet Gynaecol Res* 2010; 36(4); 726-732.
40. Sandrim V.C., Palei A.C., Cavalli R.C. et al. Vascular endothelial growth factor genotypes are associated with pre-eclampsia but not with gestational hypertension. *Mol Hum Reprod* 2009; 15(2): 115-120.
41. Papazoglou D., Galasios G., Koukourakis M.I. et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod* 2004; 10(5): 321-324.
42. Banyasz I., Szabo S., Bocodi G. et al. Genetic polymorphisms vascular endothelial growth factor in severe and pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod* 2006; 12(4): 233-236.
43. Nagy B., Savli H., Molvarec A. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphisms in HELLP syndrome patients determined by quantitative real-time PCR and melting curve analyses. *Clin Chin Acta* 2008; 389(1-2): 126-131.
44. Su M.T., Lin S.H., Chen Y.C. Genetic association studies of angiogenesis and vasoconstriction-related genes in women with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis with recurrent. *Hum Reprod Update* 2011; 1: 1-10.
45. Aggarwal S., Parveen F., Faridi R. et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in North Indian patients with recurrent miscarriages. *Reprod Biomed Online* 2011; 22(1): 59-64.
46. Coulam C.B., Jeyendran R.S. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2008; 59(4): 301-305.
47. Papazoglou D., Galasios G., Papatheodorou K. et al. Polymorphisms and gene polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2005; 83(4): 954-963.
48. Banyasz I., Bocodi G., Vasarhelyi B. Genetic polymorphisms for vascular endothelial growth factor in perinatal complication. *Eur Cytokine Netw* 2006; 17(4): 266-270.
49. Galasios G., Papazoglou D., Tsikouras P. et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pregnancy. *J Matern Neonatal Med* 2009; 22(5): 371-378.
50. Shim J.Y., Jun J.K., Jung B.K. et al. Vascular endothelial growth factor gene +936 C/T polymorphism is associated with preeclampsia in Korean women. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197(3): 271-274.