

VITAMIN D DEFICIENCY AS A RISK FACTOR FOR PREECLAMPSIA: THE ROLE OF VITAMIN D RECEPTOR AND CYTOCHROME P450 FAMILY 27 SUBFAMILY B MEMBER 1

Bogomolets National Medical University (Kyiv, Ukraine)

iren.poladich@gmail.com

Preeclampsia is a serious pregnancy complication that can have dangerous consequences for both the mother and the fetus. It is associated with vascular dysregulation, hypertension, and the potential development of complications such as preterm birth and intrauterine growth restriction. One of the potential risk factors for preeclampsia is vitamin D deficiency, as confirmed by our study involving 98 pregnant women at the Kyiv Perinatal Center.

It was found that low vitamin D levels (<20 ng/mL) were more frequently observed in younger women ($28,86 \pm 0,67$ years) with an increased body mass index ($27,85 \pm 0,34$ kg/m²). Analysis of placental tissue revealed reduced expression of the vitamin D receptor (VDR) gene ($0,95$ ($0,91$ – $1,08$)) and CYP27B1 ($1,04$ ($0,96$ – $1,12$)), as well as decreased levels of the corresponding VDR ($2,32$ ($1,11$ – $2,52$) ng/mL) and CYP27B1 ($4,34$ ($4,20$ – $5,15$) ng/mL) proteins.

Vitamin D deficiency was associated with a more severe course of preeclampsia (58,3% of cases) and its early onset (<34 weeks in 63,9% of women). The findings highlight the importance of regular monitoring of vitamin D levels in pregnant women and timely correction of its deficiency to reduce the risk of preeclampsia and improve pregnancy outcomes.

Key words: vitamin D, vitamin D deficiency, preeclampsia, placenta, VDR, CYP27B1.

Connection of the publication with planned research work.

The study is performed like a part of a science program of department of obstetrics and gynecology №1 Bogomolets National Medical University “Preservation and restoration of women’s reproductive health in conditions of rapid medical and social changes”, state registration number 0123U100920.

Introduction.

Preeclampsia (PE) is a specific pregnancy-related disorder that can have severe consequences, being a leading cause of maternal and fetal morbidity and mortality [1, 2]. According to a systematic analysis conducted by the World Health Organization (WHO) in 2022, hypertensive disorders during pregnancy were the second leading cause of maternal mortality after hemorrhage, accounting for 14% of maternal deaths worldwide [3]. In mothers with acute renal and hepatic dysfunction, pulmonary edema and cerebral edema were observed [4].

Etiology of Preeclampsia and the Role of Vitamin D. The etiology of preeclampsia is complex and not yet fully understood. It is currently hypothesized that the disorder is primarily driven by abnormal placentation [5]. Numerous studies have demonstrated a strong association between low vitamin D (VD) levels and the development of PE [6]. Furthermore, most scientific communities recommend vitamin D supplementation during pregnancy due to its widespread deficiency in pregnant populations [7–9] and its potential link to obstetric complications [10, 11].

Placental tissues, particularly syncytiotrophoblasts, exhibit gene expression related to the vitamin D metabolic pathway, including 25-hydroxylase (CYP2R1), 1 α -hydroxylase (CYP27B1), and 24-hydroxylase (CYP24A1), ensuring effective vitamin D metabolism in pregnant women. These hydroxylases play a crucial role in the conversion of cholecalciferol into calcitriol, the active form of vitamin D (1,25(OH)₂D₃, 1,25-D₃). Alterations in the expression and activity of hydroxylases may disrupt circulating vitamin D levels. During pregnancy, plasma calcitriol concentrations increase 2–3 times

compared to pre-pregnancy levels, beginning at 10–12 weeks of gestation and persisting until term [12]. This increase in VD is independent of parathyroid hormone (PTH), which remains stable throughout pregnancy [13].

Vitamin D exerts pleiotropic effects on target organs by binding to the vitamin D receptor (VDR). During pregnancy, VD plays a dual role, benefiting both the mother and the fetus. Experimental studies have shown that both 1,25(OH)₂D₃ and its precursor 25(OH)D enhance trophoblast invasion in vitro [14]. In human syncytiotrophoblasts, calcitriol autocrinally regulates the synthesis of human chorionic gonadotropin (hCG) [15], human placental lactogen (hPL) [16], estradiol, and progesterone [17].

The vitamin D receptor (VDR) belongs to the nuclear steroid receptor family and functions as a nuclear transcription factor by binding to the retinoid X receptor (RXR). This VDR-RXR complex recognizes vitamin D response elements (VDREs) within gene promoter sequences regulated by vitamin D [18]. The expression of VDR is influenced by co-activators and co-repressors, which either enhance or suppress gene expression. Co-repressors bind to VDR in the absence of a ligand, blocking its activity. Given vitamin D’s multifunctional properties, VDRs have been identified in various human tissues [19, 20].

It has been conclusively demonstrated that adequate vitamin D levels during pregnancy and proper placental expression of VD-related genes are essential for placental growth and function [21]. Conversely, multiple studies have indicated that vitamin D deficiency is strongly associated with preeclampsia development [22]. This may be linked to altered placental expression of VDR and hydroxylases, which disrupt VD metabolism in preeclamptic women. Additionally, abnormal trophoblast invasion in early pregnancy and impaired placental angiogenesis are associated with PE development.

The aim of the study.

To evaluate the relationship between 25(OH)D levels and the expression of VDR and CYP27B1 genes in placental tissue of women with preeclampsia.

Object and research methods.

To achieve this objective, a study was conducted between September 2022 and October 2024 at the Kyiv Perinatal Center, a clinical base of the Department of Obstetrics and Gynecology № 1 at Bogomolets National Medical University. The study included 98 pregnant women who were under observation and delivered at this facility. Main group (n=75): Pregnant women diagnosed with preeclampsia, further subdivided based on vitamin D status: Group I (n=36): Pregnant women with vitamin D deficiency (25(OH)D < 20 ng/mL) and preeclampsia. Group II (n=32): Pregnant women with normal vitamin D levels (25(OH)D > 30 ng/mL) and preeclampsia. Control group (n=30): Pregnant women with a physiological pregnancy course and optimal vitamin D levels.

The diagnosis of preeclampsia was established according to the guidelines of the Ministry of Health of Ukraine (Order No. 151, dated 24.01.2022) on Hypertensive Disorders in Pregnancy [23].

Inclusion Criteria:

- Singleton pregnancy with confirmed preeclampsia.
- No intake of vitamin-mineral supplements containing calcium or vitamin D.
- Exclusion Criteria
- History of chronic hypertension.
- Multiple pregnancy.
- Comorbid cardiovascular or endocrine disorders.
- Vitamin D supplementation prior to conception or during pregnancy.

The serum 25(OH)D levels were measured at the Kyiv Perinatal Center laboratory using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with Monobind (USA) reagents and a Sinnova ER 500 microplate reader (China).

Vitamin D levels were classified according to Monobind's recommendations: Deficiency: < 20 ng/mL, Insufficiency: 20–30 ng/mL, Optimal: > 30 ng/mL.

Placental samples were collected immediately after delivery, regardless of whether vaginal delivery or cesarean section was performed. Tissue fragments (~1 cm³) were obtained from the maternal side of the placenta, particularly from villous cytotrophoblast and decidual regions, including both central and peripheral areas of the placental disk. Following removal of maternal and fetal-contacting tissues, samples were washed twice in cold phosphate-buffered saline (PBS), frozen in liquid nitrogen, and stored at -80°C.

Placental gene expression analysis was performed using quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR). Total RNA extraction was performed using Trizol RNA Prep Kit (NEOGENE, Ukraine). RNA concentration was measured using the DS-11 spectrophotometer/fluorometer (DeNovix, USA). cDNA synthesis was conducted using the Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) under standard conditions (+50°C for 35 minutes).

qPCR analysis was performed using a qTOWER 2.0 Standard RT-PCR Thermal Cycler (Analytik Jena AG, Germany) with Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, USA). Primer design for VDR and CYP27B1 genes was conducted using Primer BLAST software (table 1).

The levels of VDR (vitamin D receptor) and CYP27B1 (25-hydroxyvitamin D-1 alpha-hydroxylase) in placental tissue homogenates were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The following ELISA kits were used: VDR ELISA Kit (sensitivity: 0,375 ng/mL; AssayGenie, Dublin, Ireland), CYP27B1 ELISA Kit (sensitivity: 0,33 ng/mL; MyBioSource, San Diego, USA). The analysis was conducted following the manufacturer's instructions. After the reaction was completed and blocking was performed, absorbance was measured using an Infinite 200 microplate reader (TECAN, Männedorf, Switzerland). The concentrations of VDR and CYP27B1 proteins were determined using a standard curve obtained by linear regression analysis.

Data analysis was performed using MedStat v.5.2 and EZR v.3.4.1 software. Shapiro-Wilk test was used to assess the normality of data distribution. Quantitative variables with a normal distribution were presented as mean ± standard deviation (SD), while non-normally distributed data were expressed as median and interquartile range (IQR). Clinical characteristics between groups were compared using: Student's t-test for normally distributed data, Fisher's exact test for categorical variables. Non-parametric data, including gene and protein expression levels, were analyzed using the Mann-Whitney U-test. Spearman's rank correlation analysis was used to assess correlations. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

According to the conclusion of the Bioethics Commission No. 76 of 20.08.2022, the study materials meet the requirements adopted by the international community and current regulations of Ukraine, as well as the requirements of the Ethical Code of Physicians of Ukraine. All participants provided written informed consent to participate in the study.

Table 1 – List of Primers for qPCR Analysis

Gen	Forward 5'→3'	Reverse 5'→3'
CYP27B1	GCCCACCATAGACCTACGA	AGATTGGAGAAGCTGGACGA
VDR	TGGCCAGATCCTAACACATT	GTCCGGGTCTGGGTCTAACT

Table 2 – Clinical and laboratory characteristics of study groups

Indicator	I group n=36	II group n=32	Control group n=30
Age, years	28,86±0,67* (22-37)	29,31±0,73 (23-38)	31,27±0,99 (21-40)
25(OH)D, ng/mL	11,93±0,59* (7,48-19,55)	34,46±0,88 (20,45-42,82)	33,9±0,32 (31,33-39,75)
BMI, kg/m ²	27,85±0,34* (20,8-32,8)	26,01±0,31 (20,4-28,6)	26,54±0,29 (22,5-29,7)
Pregnancy			
• Primigravida	20 (55,5%)*	15 (46,9%)	14 (46,7%)
• Multigravida	16 (44,5%)*	17 (53,1%)	16 (53,3%)
Delivery			
• First delivery	19 (52,7%)*	14 (43,8%)	18 (45%)
• Subsequent delivery	17 (47,3%)*	18 (56,2%)	22 (55%)
Preeclampsia by time of onset			
With an early onset	23 (63,9%)*	15 (46,9%)	-
With a late onset	13 (36,1%)*	17 (53,1%)	-
Preeclampsia by severity			
• Mild	15 (41,7%)*	19 (59,4%)	-
• Severe	21 (58,3%)*	13 (40,6%)	-

Note: p<0,05 compared to the control group.

Research results and their discussion.

The mean age of pregnant women in the vitamin D deficiency group ($28,86 \pm 0,67$ years) was slightly lower than in the control group ($31,27 \pm 0,99$ years). This suggests that vitamin D deficiency is more frequently observed in younger women. Rouhani P. et al. have noted that maternal age is a significant risk factor for pregnancy complications [24]. Young primiparous women (<30 years old) often exhibit less developed immunological adaptation to pregnancy, and low vitamin D levels may further exacerbate these impairments, reducing the body's ability to effectively undergo immune and vascular remodeling.

The difference in vitamin D levels between the groups was highly significant: in Group I ($11,93 \pm 0,59$ ng/mL), vitamin D levels were markedly lower than in the control group ($33,9 \pm 0,32$ ng/mL). In Group II, 25(OH)D levels ($34,46 \pm 0,88$ ng/mL) were sufficient, contributing to a less severe course of preeclampsia (table 2).

According to the literature, 25(OH)D levels below 20 ng/mL are associated with impaired early trophoblast invasion, leading to the formation of narrow spiral arteries and increased resistance in the placental circulation [25, 26]. This is a key mechanism in the development of preeclampsia.

The BMI of women in Group I ($27,85 \pm 0,34$ kg/m²) was significantly higher compared to the control group ($26,54 \pm 0,29$ kg/m²), indicating a potential impact of obesity or overweight as a synergistic risk factor.

Excess weight reduces vitamin D bioavailability due to its accumulation in adipose tissue. Women with obesity are at higher risk of gestational hypertension, preeclampsia, and metabolic disorders. Zhou Q. et al. suggested that elevated BMI combined with vitamin D deficiency worsens vascular reactivity, increases pro-inflammatory cytokine levels, and decreases antioxidant system activity [27].

In Group I, first pregnancies were more frequent (55,5% of cases), a higher rate compared to the control group. Literature sources confirm that primiparous women have a higher risk of preeclampsia due to the lack of prior immunological adaptation to pregnancy.

Vitamin D deficiency in primiparous pregnant women may further exacerbate complications by affecting the activity of T-regulatory cells, which are responsible for maintaining immune balance during pregnancy.

Early-onset preeclampsia (<34 weeks) was observed in 63,9% of women in Group I, which was significantly higher than in Group II (46,9%). According to the literature, early-onset preeclampsia is a more severe condition as it is associated with primary placentation disorders. Vitamin D in the placenta plays a role in vascular remodeling regulation and oxidative stress reduction. Its deficiency can lead to placental hypoxia, impaired fetoplacental circulation, and systemic endothelial dysfunction.

The severe form of preeclampsia was more common in Group I (58,3%), whereas only 40.6% of cases in Group II were classified as severe. Severe preeclampsia is often associated with elevated levels of pro-inflammatory cytokines, which exacerbate endothelial dysfunction. Vitamin D has strong anti-inflammatory properties, and its deficiency may contribute to the severity of the disease.

Analysis of VDR mRNA expression in the placenta of women with preeclampsia showed that in Group I (vita-

min D deficiency), the VDR mRNA expression level was $0,95$ ($0,91-1,08$), which was significantly lower ($p < 0,05$) than in the control group ($1,22$ ($1,15-1,29$)). In Group II (normal vitamin D levels), VDR mRNA expression was higher – $1,14$ ($0,96-1,12$), though it did not significantly differ from control values (table 3).

Table 3 – mRNA Expression of VDR and CYP27B1 in the Study Groups ($M \pm m$)

Gen	Group I n=36	Group II n=32	Control group n=30
VDR	0,95 (0,91-1,08)*	1,14 (1,04-1,26)	1,22 (1,15-1,29)
CYP27B1	1,04 (0,96-1,12)*	1,16 (1,07-1,24)	1,06 (0,97-1,17)

Note: $p < 0,05$ compared to the control group.

In Group I, CYP27B1 gene expression was $1,04$ ($0,96-1,12$), which was significantly lower ($p < 0,05$) than in the control group ($1,06$ ($0,97-1,17$)). Group II demonstrated an increased expression of CYP27B1 – $1,16$ ($1,07-1,24$), which was even higher than the control level; however, the difference was not statistically significant.

These results indicate a reduced expression of VDR and CYP27B1 in pregnant women with vitamin D deficiency. This may suggest a functional insufficiency of the vitamin D-dependent system, which plays a crucial role in calcium homeostasis regulation and immune response [28-30]. At the same time, in pregnant women with normal vitamin D levels (Group II), a partial compensation of these markers was observed, reflecting a more favorable state of vitamin D metabolism.

When analyzing VDR and CYP27B1 protein levels in placental tissue, it was found that in Group I, the VDR protein concentration was $2,32$ ($1,11-2,52$) ng/mL, which was significantly lower ($p < 0,05$) than in the control group ($3,41$ ($2,83-3,91$) ng/mL). In Group II, VDR concentration was higher – $2,55$ ($1,91-2,78$) ng/mL, but still lower than in the control group (table 4).

Table 4 – Concentrations of VDR and CYP27B1 Proteins in the Study Group ($M \pm m$)

Proteins (ng/ml)	Group I n=36	Group II n=32	Control group n=30
VDR	2,32 (1,11-2,52)*	2,55 (1,91-2,78)	3,41 (2,83-3,91)
CYP27B1	4,34 (4,20-5,15)*	5,32 (4,68-5,59)	5,23 (4,68-5,83)

Note: $p < 0,05$ compared to the control group.

Regarding CYP27B1, in pregnant women with vitamin D deficiency (Group I), its concentration was $4,34$ ($4,20-5,15$) ng/mL, which was significantly lower ($p < 0,05$) compared to Group II ($5,32$ ($4,68-5,59$) ng/mL) and the control group ($5,23$ ($4,67-5,83$) ng/mL). In pregnant women with normal vitamin D levels (Group II), the CYP27B1 concentration was comparable to the control group.

The reduced concentrations of VDR and CYP27B1 proteins in pregnant women with vitamin D deficiency indicate a disruption of the vitamin D system in these patients. This may explain the more severe course of preeclampsia in this group. Conversely, in pregnant women with optimal vitamin D levels (Group II), the parameters were closer to normal, confirming the importance of adequate vitamin D levels in maintaining normal pregnancy physiology.

Pregnant women with vitamin D deficiency exhibited a significant decrease in the expression levels of VDR and

CYP27B1 genes, which may be associated with impaired functionality of the vitamin D receptor system. The reduced levels of VDR and CYP27B1 proteins in Group I further support the role of vitamin D deficiency in the pathogenesis of preeclampsia. In contrast, pregnant women with normal vitamin D levels had better gene expression and protein levels, highlighting the protective role of vitamin D in pregnancy outcomes.

Conclusions.

Vitamin D deficiency was more frequently observed in younger pregnant women (<30 years old), with an average age of $28,86 \pm 0,67$ years, compared to $31,27 \pm 0,99$ years in the control group. Women with vitamin D deficiency also had a higher BMI ($27,85 \pm 0,34$ kg/m²) compared to the control group ($26,54 \pm 0,29$ kg/m²).

A low 25(OH)D level ($11,93 \pm 0,59$ ng/mL in Group I vs. $33,9 \pm 0,32$ ng/mL in the control group) was associated with placental blood flow abnormalities, early-onset preeclampsia (<34 weeks in 63,9% of women in Group I

vs. 46,9% in Group II), and a more severe disease course (58,3% in Group I vs. 40,6% in Group II).

Pregnant women with vitamin D deficiency had lower expression levels of VDR (0,95 (0,91-1,08)) and CYP27B1 (1,04 (0,96-1,12)) compared to the control group (1,22 (1,15-1,29) and 1,06 (0,97-1,17), respectively).

VDR and CYP27B1 protein levels in the placenta were also significantly lower: VDR: 2,32 (1,11-2,52) ng/mL in Group I vs. 3,41 (2,83-3,91) ng/mL in the control group. CYP27B1: 4,34 (4,20-5,15) ng/mL in Group I vs. 5,23 (4,67-5,83) ng/mL in the control group.

These findings emphasize the necessity of monitoring and correcting vitamin D levels in pregnant women to prevent complications such as preeclampsia.

Prospects of further research.

Investigating the role of vitamin D in the pathogenesis of preeclampsia contributes to the development of new preventive and therapeutic approaches aimed at reducing maternal and perinatal risks.

DOI 10.29254/2077-4214-2025-1-176-288-297

УДК 618.3/.5-06:616.12-008.331.1-07-085:577.161.2

Поладич І. В., Говсєєв Д. О.

ДЕФІЦИТ ВІТАМІНУ D ЯК ФАКТОР РИЗИКУ ПРЕЕКЛАМПСІЇ: РОЛЬ РЕЦЕПТОРА ВІТАМІНУ D ТА ЦИТОХРОМУ P450 РОДИНИ 27 ЧЛЕН ПІДРОДИНИ В 1

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ, Україна)

iren.poladich@gmail.com

Прееклампсія є серйозним ускладненням вагітності, яке може мати небезпечні наслідки для матері та плода. Вона пов'язана з порушеннями судинної регуляції, гіпертензією та можливим розвитком ускладнень, таких як передчасні пологи та затримка внутрішньоутробного розвитку плода. Одним із потенційних факторів ризику розвитку пееклампсії є дефіцит вітаміну D, що підтверджено нашим дослідженням за участю 98 вагітних жінок у Перинатальному центрі м. Києва.

Було встановлено, що низький рівень вітаміну D (<20 нг/мл) частіше спостерігається у жінок молодшого віку ($28,86 \pm 0,67$ років) із підвищеним індексом маси тіла ($27,85 \pm 0,34$ кг/м²). Аналіз плацентарної тканини показав знижену експресію генів рецептора вітаміну D (VDR) (0,95 (0,91–1,08)) та CYP27B1 (1,04 (0,96–1,12)), а також зменшення рівнів відповідних білків VDR (2,32 (1,11–2,52) нг/мл) і CYP27B1 (4,34 (4,20–5,15) нг/мл).

Дефіцит вітаміну D був асоційований із тяжчим перебігом пееклампсії (58,3% випадків) та її раннім початком (<34 тижнів у 63,9% жінок). Отримані результати свідчать про важливість регулярного моніторингу рівня вітаміну D у вагітних жінок та своєчасної корекції його дефіциту для зниження ризику розвитку пееклампсії та покращення результатів вагітності.

Ключові слова: вітамін D, дефіцит вітаміну D, пееклампсія, плацента, VDR, CYP27B.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри акушерства і гінекології №1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Збереження та відновлення репродуктивного здоров'я жінок в умовах швидких медико-соціальних змін», номер державної реєстрації 0123U100920.

Вступ.

Прееклампсія (ПЕ) є специфічним захворюванням під час вагітності, яке може мати серйозні наслідки, будучи основною причиною захворюваності та смертності матері та плода [1, 2]. За даними систематичного аналізу Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), проведеного у 2022 році, гіпертензивні розлади під час вагітності були другою причиною материнської смертності після кровотечі, становлячи 14% таких випадків у всьому світі [3]. У матерів із го-

строю дисфункцією нирок і печінки міг спостерігатися набряк легенів і набряк головного мозку [4].

Етіологія пееклампсії складна і до кінця не вивчена. В даний час припускають, що в основі цього порушення лежать процеси, які призводять до порушення процесу плаценталізації [5]. Багато досліджень показали, що виникнення ПЕ пов'язане зі зниженням рівнем вітаміну D (VD) [6]. Більше того, більшість наукових спільнот рекомендують додавання VD під час вагітності через його поширений дефіцит у популяції вагітних [7-9] і потенційний зв'язок дефіциту VD з виникненням акушерських ускладнень [10, 11].

У плаценті, особливо в синцитіотрофобласті, описана експресія генів, пов'язаних із шляхом вітаміну D, таких як 25-гідроксилаза (CYP2R1), 1 α -гідроксилаза (Cytochrome P450 family 27 subfamily B member 1 – CYP27B1) і 24-гідроксилаза (CYP24A1), що гарантує ефективний метаболізм вітаміну D у вагітних. Ці гідроксилази відіграють важливу роль у перетворенні

холекальциферолу в кальцитріол, який є активною формою вітаміну D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, $1,25\text{-D}_3$). Зміни в експресії та активності гідроксилаз можуть порушити циркулюючий рівень вітаміну D. Концентрація кальцитріолу в плазмі підвищується у вагітних жінок у 2–3 рази порівняно з рівнем до вагітності, починаючи з 10–12 тижня вагітності й зберігаючи до кінця вагітності [12]. Збільшення VD не залежить від паратгормону, рівень якого залишається незмінним протягом всієї вагітності [13].

У людини вітамін D має плейотропну функцію і діє на органи-мішені, специфічно зв'язуючись з рецептором вітаміну D (VDR). Важлива дія вітаміну D під час вагітності має комбінований вплив як на матір, так і на плід. Експериментальні дослідження показали, що як форма $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, так і її попередник $25(\text{OH})\text{D}$ посилюють інвазію трофобласта *in vitro* [14]. У синцитіотрофобласті людини кальцитріол аутокринним чином регулює синтез хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) [15], плацентарного лактогену людини (ПЛ) [16], естрадіолу та прогестерону [17].

Рецептор вітаміну D належить до сімейства ядерних стероїдних рецепторів і як ядерний фактор транскрипції зв'язується з ретиноїдним рецептором X (RXR). Цей комплекс розпізнає чутливі до вітаміну D елементи у промоторній послідовності ДНК генів, які регулюються безпосередньо вітаміном D [18]. На експресію VDR впливають коактиватори та корепресори, які посилюють або пригнічують експресію генів відповідно. Корекцептори зв'язуються з VDR і блокують його активність за відсутності ліганду. Відповідно до мультипотенційної дії вітаміну D, навіть VDRs були розташовані в багатьох тканинах людського тіла [19, 20].

Було остаточно продемонстровано, що належний рівень VD під час вагітності та відповідна плацентарна експресія генів, пов'язаних із шляхом VD, є вирішальними для росту та функціонування плаценти [21]. З іншого боку, кілька досліджень показали, що дефіцит вітаміну D може бути сильно пов'язаний з розвитком прееклампсії [22]. Цей факт може бути пов'язаний зі змінами в плацентарній експресії VDR та гідролази, які порушують метаболізм VD у жінок з прееклампсією. Крім того, аномальна інвазія трофобласта на ранніх термінах вагітності та порушення плацентарного ангиогенезу пов'язані з розвитком ПЕ.

Мета дослідження.

Оцінити взаємозв'язок між рівнем $25(\text{OH})\text{D}$ та експресією генів VDR та CYP27B1 у плацентарній тканині жінок із прееклампсією.

Об'єкт і методи дослідження.

Відповідно до поставленої мети, з вересня 2022 по жовтень 2024 року у КНП «Перинатальний центр м. Київ», що функціонує як клінічна база кафедри акушерства та гінекології №1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, було проведено дослідження за участі 98 вагітних жінок, які перебували під наглядом і народжували у цьому закладі. Основна група включала 75 вагітних із підтвердженою прееклампсією, яких залежно від забезпеченості організму вітаміном D розділили на дві підгрупи: I група – 36 вагітних із дефіцитом вітаміну D (рівень $25(\text{OH})\text{D}$ нижче 20 нг/мл) та прееклампсією. II група – 32 вагітних із нормальним рівнем вітаміну D (рівень $25(\text{OH})\text{D}$ понад 30 нг/мл) та прееклампсією.

Контрольна група складалася з 30 жінок із фізіологічним перебігом вагітності та оптимальним рівнем вітаміну D. Діагноз прееклампсії встановлювали відповідно до наказу МОЗ України №151 від 24.01.2022 «Про затвердження Уніфікованого клінічного протоколу медичної допомоги “Гіпертензивні розлади під час вагітності”» [23].

Критерії включення до дослідження:

- Одноплідна вагітність із підтвердженням діагнозом прееклампсії.
- Відсутність прийому вітамінно-мінеральних комплексів, що містять кальцій та вітамін D.
- Критерії виключення:
- Наявність артеріальної гіпертензії в анамнезі.
- Багатоплідна вагітність.
- Супутні серцево-судинні чи ендокринні захворювання.
- Прийом вітаміну D на прегравідарному етапі або під час вагітності.

Визначення рівня $25(\text{OH})\text{D}$ у крові проводили в лабораторії КНП «Перинатальний центр м. Київ» методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням реагентів Monobind (США) та мікропланшетного читувача Sinnova ER 500 (Китай).

Рівні $25(\text{OH})\text{D}$ оцінювали відповідно до рекомендацій виробника Monobind: Дефіцит – концентрація менше 20 нг/мл. Недостатність – від 20 до 30 нг/мл. Оптимальний рівень – понад 30 нг/мл.

Зразки плаценти були зібрані безпосередньо після пологів, незалежно від способу розродження – природного чи шляхом операції кесарів розтин. Для дослідження брали фрагменти розміром приблизно 1 см^3 з материнської сторони плаценти, зокрема з ділянок ворсинчастого цитотрофобласта та децидуальної оболонки, включаючи центральну і крайову частини плацентарного диска. Після видалення тканин, які контактували з матір'ю та плодом, зразки промивали двічі охолодженим фосфатно-буферним сольовим розчином (PBS), заморожували в рідкому азоті та зберігали при температурі -80°C .

Аналіз експресії генів плацентарної тканини здійснювали за допомогою методу кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (real-time polymerase chain reaction – qPCR). Виділення тотальної РНК виконувалось із зразків тканин, попередньо подрібнених у рідкому азоті, використовуючи спеціалізовані набори: для плацентарної тканини застосовували Trizol RNA Prep kit (NEOGENE, Україна).

Визначення концентрації мРНК проводили на спектрофотометрі/флуориметрі DS-11 (DeNovix, США). Синтез комплементарної ДНК (кДНК) виконували відповідно до стандартного протоколу, використовуючи набір Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific, США), за температури $+50^\circ\text{C}$ протягом 35 хвилин.

Синтезована кДНК слугувала матрицею для подальшого проведення qPCR на термоциклері qTOWER 2.0 Standard RT-PCR Thermal Cycler (Analytik Jena AG, Німеччина) із застосуванням набору Maxima SYBER Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, США). Дизайн праймерів для кожного гену здійснювався за допомогою програми Primer BLAST (табл. 1).

За допомогою імуноферментного аналізу визначали рівні VDR (рецептора вітаміну D3) та CYP27B1 (25-гідроксивітаміну D-1 альфа-гідроксилази) у го-

могенатах плацентарної тканини використовуючи набори ELISA (набір для визначення людського VDR (чутливість: 0,375 нг/мл; AssayGenie, Дублін, Ірландія), набір для CYP27B1 (чутливість: 0,33 нг/мл; MyBioSource, Сан-Дієго, США). Аналіз проводили відповідно до інструкцій виробників. Після завершення реакції блокування абсорбцію вимірювали за допомогою мікропланшетного рідера Infinite 200 (TECAN, Männedorf, Швейцарія). Концентрації білків VDR та CYP27B1 визначали за допомогою стандартної кривої, отриманої шляхом лінійної регресії.

Статистичний аналіз даних проводився за допомогою програмного забезпечення MedStat v.5.2 та EZR v.3.4.1. Для перевірки нормальності розподілу даних використовували тест Шапіро-Вілка. Кількісні змінні з нормальним розподілом представляли у вигляді середнього значення $\pm$ стандартне відхилення (SD), а за відсутності нормального розподілу – як медіану та інтерквартильний діапазон. Порівняння клінічних характеристик між групами виконували за допомогою t-критерію Стюдента для даних із нормальним розподілом і критерію Фішера для категоріальних змінних. Для аналізу непараметричних даних щодо експресії генів і білків застосовували U-тест Манна-Уїтні. Кореляційні зв'язки оцінювали за методом рангового аналізу Спірмена. Значення p менші ніж 0,05, вважали статистично значущими.

За висновком комісії з біоетики № 76 від 20.08.2022 року матеріали дослідження відповідають вимогам, прийнятим міжнародним співтовариством та чинним нормативно-правовим актам України, вимогам Етичного кодексу лікаря України. Всі учасники надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

Результати дослідження та їх обговорення.

Середній вік вагітних у групі з дефіцитом вітаміну D ($28,86 \pm 0,67$ років) є дещо нижчим порівняно з контрольною групою ($31,27 \pm 0,99$ років). Це може свідчити про те, що дефіцит вітаміну D частіше зустрічається у молодших жінок. Rouhani P. та співавтори зазначають, що вік є важливим фактором ризику ускладнень вагітності [24]. Молоді першонароджуючі жінки (<30 років) часто мають менш сформовану імунологічну адаптацію до вагітності, а низький рівень вітаміну D може ще більше посилювати ці порушення, знижуючи здатність організму до ефективного імунного та судинного ремоделювання.

Різниця в рівнях вітаміну D між групами є дуже вираженою: у I групі ($11,93 \pm 0,59$ нг/мл) рівень вітаміну D значно нижчий, ніж у контрольній групі ($33,9 \pm 0,32$ нг/мл). У II групі рівень 25(OH)D ($34,46 \pm 0,88$ нг/мл) є достатнім, що сприяє менш тяжкому перебігу прееклампсії (табл. 2).

Література вказує, що рівень 25(OH)D нижче 20 нг/мл асоціюється із порушенням ранньої інвазії трофобласту, що призводить до формування вузьких спіральних артерій і, відповідно, підвищення резистентності в плацентарному кровотоці [25, 26]. Це є ключовим механізмом розвитку прееклампсії.

IMT у жінок I групи ($27,85 \pm 0,34$ кг/м²) був достовірно вищим порівняно з контрольною групою ($26,54 \pm 0,29$ кг/м²). Це вказує на можливий вплив ожиріння або надмірної ваги як синергічного фактора ризику.

Надмірна вага знижує біодоступність вітаміну D через його накопичення в жировій тканині. У жінок з ожирінням спостерігається більший ризик гестаційної гіпертензії, прееклампсії та метаболічних порушень. Zhou Q. та співавтори вважають, що підвищений IMT у комбінації з дефіцитом вітаміну D погіршує судинну реактивність, підвищує рівень прозапальних цитокінів і зменшує активність антиоксидантних систем [27].

У I групі перша вагітність частіше зустрічалася у 55,5% випадків, що є вищим показником порівняно з контрольною групою. Літературні джерела підтверджують, що первородящі жінки мають вищий ризик прееклампсії через відсутність попередньої імунологічної адаптації до вагітності.

Дефіцит вітаміну D у першонароджуючих вагітних може додатково погіршувати стан і сприяти розвитку ускладнень через його вплив на активність T-регуляторних клітин, які відповідають за підтримання імунного балансу під час вагітності.

Ранній початок прееклампсії (<34 тижнів) спостерігався у 63,9% жінок I групи, що значно перевищує показники II групи (46,9%). Згідно з літературою, ранній початок прееклампсії є більш тяжким станом, оскільки асоціюється з первинними порушеннями плацентації. Вітамін D у плаценті сприяє регуляції судинного ремоделювання та зниженню оксидативного стресу. Його дефіцит може призводити до гіпоксії

Таблиця 1 – Перелік праймерів для проведення кількісної ПЛР у реальному часі (qPCR)

Ген	Forward 5'→3'	Reverse 5'→3'
CYP27B1	GCCCACCATAAGACCTACGA	AGATTGGAGAAGCTGGACGA
VDR	TGGCCCAGATCCTAACACATT	GTCCGGGTCTTGGGTCTAACT

Таблиця 2 – Клініко-лабораторна характеристика досліджуваних груп

Показник	I група n=36	II група n=32	Контрольна група n=30
Вік, роки	$28,86 \pm 0,67^*$ (22-37)	$29,31 \pm 0,73$ (23-38)	$31,27 \pm 0,99$ (21-40)
25(OH)D, нг/мл	$11,93 \pm 0,59^*$ (7,48-19,55)	$34,46 \pm 0,88$ (20,45-42,82)	$33,9 \pm 0,32$ (31,33-39,75)
IMT, кг/м ²	$27,85 \pm 0,34^*$ (20,8-32,8)	$26,01 \pm 0,31$ (20,4-28,6)	$26,54 \pm 0,29$ (22,5-29,7)
Вагітність • Перша • Повторна	20 (55,5%)* 16 (44,5%)*	15 (46,9%) 17 (53,1%)	14 (46,7%) 16 (53,3%)
Пологи • Перші • Повторні	19 (52,7%)* 17 (47,3%)*	14 (43,8%) 18 (56,2%)	18 (45%) 22 (55%)
Прееклампсія за часом виникнення • з раннім початком • з пізнім початком	23 (63,9%)* 13 (36,1%)*	15 (46,9%) 17 (53,1%)	- -
Прееклампсія за тяжкістю: • помірна • тяжка	15 (41,7%)* 21 (58,3%)*	19 (59,4%) 13 (40,6%)	- -

Примітка: * $p < 0,05$ порівнянню з контрольною групою.

Таблиця 3 – Експресія мРНК VDR та CYP27B1 у обстежуваних групах (M±m)

Ген	I група n=36	II група n=32	Контрольна група n=30
VDR	0,95 (0,91-1,08)*	1,14 (1,04-1,26)	1,22 (1,15-1,29)
CYP27B1	1,04 (0,96-1,12)*	1,16 (1,07-1,24)	1,06 (0,97-1,17)

Примітка: * p<0,05 порівнянню з контрольною групою.

плаценти, порушення фетоплацентарного кровотоку та системної ендотеліальної дисфункції.

Тяжка форма преєклампсії була частішою в I групі (58,3%), тоді як у II групі важкі випадки складала лише 40,6%. Тяжка форма преєклампсії часто асоціюється з підвищеним рівнем прозапальних цитокінів, які посилюють ендотеліальну дисфункцію. Вітамін D має потужні протизапальні властивості, тому його дефіцит може сприяти тяжкому перебігу.

Аналіз експресії мРНК VDR в плацентах жінок з преєклампсією показав, що у групі вагітних із дефіцитом вітаміну D (I група) рівень експресії мРНК VDR становив 0,95 (0,91-1,08), що було статистично нижче (p<0,05), ніж у контрольній групі (1,22 (1,15-1,29)). У II групі, яка включала вагітних із нормальним рівнем вітаміну D, експресія мРНК VDR була вищою – 1,14 (0,96-1,12), але незначно відрізнялася від показників контрольної групи (табл. 3).

Експресія гена CYP27B1, у I групі його експресія складала 1,04 (0,96-1,12), що також була значно нижчою (p<0,05), ніж у контрольній групі (1,06 (0,97-1,17)). II група демонструвала підвищену експресію цього гена – 1,16 (1,07-1,24), яка була навіть вищою за контрольний рівень, але статистично значущі відмінності не виявлено.

Отримані результати свідчать про зниження експресії VDR та CYP27B1 у вагітних із дефіцитом вітаміну D. Це може вказувати на функціональну недостатність вітамін D-залежної системи, яка відіграє важливу роль у регуляції кальцієвого гомеостазу та імунної відповіді [28-30]. Водночас у вагітних із нормальним рівнем вітаміну D (II група) спостерігалася часткова компенсація цих показників, що відображає більш сприятливий стан метаболізму вітаміну D.

Визначаючи рівні білків VDR і CYP27B1 в плацентарній тканині, було виявлено, що у I групі концентрація білка VDR становила 2,32 (1,11-2,52) нг/мл, що було значно нижчою (p<0,05), ніж у контрольній групі (3,41 (2,83-3,91) нг/мл). У II групі концентрація VDR була вищою – 2,55 (1,91-2,78) нг/мл, але все ще поступалася контрольній групі (табл. 4).

Щодо CYP27B1, у вагітних із дефіцитом вітаміну D (I група) його концентрація складала 4,34 (4,20-5,15) нг/мл, що була статистично нижчою (p<0,05) порівняно з II групою (5,32 (4,68-5,59) нг/мл) і контрольною групою (5,23 (4,67-5,83) нг/мл). У вагітних із нормальним рівнем вітаміну D (II група) концентрація CYP27B1 була на рівні контрольної групи.

Таблиця 4 – Концентрації білка VDR та CYP27B1 у обстежуваних групах (M±m)

Білок (нг/мл)	I група n=36	II група n=32	Контрольна група n=30
VDR	2,32 (1,11-2,52)*	2,55 (1,91-2,78)	3,41 (2,83-3,91)
CYP27B1	4,34 (4,20-5,15)*	5,32 (4,68-5,59)	5,23 (4,68-5,83)

Примітка: * p<0,05 порівнянню з контрольною групою.

Зниження концентрації білків VDR і CYP27B1 у вагітних із дефіцитом вітаміну D свідчить про порушення функціонування системи вітамін D у цих пацієнток. Це може пояснювати тяжкий перебіг преєклампсії в цій групі. Натомість у вагітних із оптимальним рівнем вітаміну D (II група) показники були ближчими до норми, що підтверджує важливість забезпеченості вітаміном D для підтримання нормальної фізіології вагітності.

У вагітних із дефіцитом вітаміну D спостерігалася значне зниження рівня експресії генів VDR і CYP27B1, що може бути пов'язано з порушенням функціональності рецепторної системи вітаміну D. Функційний рівень білків VDR та CYP27B1 у I групі підтверджує роль дефіциту вітаміну D у патогенезі преєклампсії. Вагітні з нормальним рівнем вітаміну D мали кращі показники експресії генів і рівня білків, що вказує на захисну роль вітаміну D у перебігу вагітності.

Висновки.

Дефіцит вітаміну D частіше спостерігається у молодих вагітних (<30 років), середній вік яких становив 28,86±0,67 років, порівняно з 31,27±0,99 років у контрольній групі. Жінки з дефіцитом вітаміну D також мали вищий IMT (27,85±0,34 кг/м²) порівняно з контрольною групою (26,54±0,29 кг/м²).

Низький рівень 25(OH)D (11,93±0,59 нг/мл у I групі проти 33,9±0,32 нг/мл у контрольній групі) асоціюється з порушенням плацентарного кровотоку, раннім початком преєклампсії (<34 тижнів у 63,9% жінок I групи проти 46,9% у II групі) та її тяжким перебігом (58,3% у I групі проти 40,6% у II групі).

У вагітних із дефіцитом вітаміну D спостерігається знижена експресія генів VDR (0,95 (0,91-1,08)) та CYP27B1 (1,04 (0,96-1,12)) порівняно з контрольною групою (1,22 (1,15-1,29) та 1,06 (0,97-1,17) відповідно). Рівень білків VDR і CYP27B1 у плаценті також був значно нижчим: 2,32 (1,11-2,52) нг/мл та 4,34 (4,20-5,15) нг/мл у I групі проти 3,41 (2,83-3,91) нг/мл та 5,23 (4,67-5,83) нг/мл у контрольній групі.

Таким чином, результати підкреслюють необхідність моніторингу та корекції рівня вітаміну D у вагітних для запобігання розвитку ускладнень, таких як преєклампсія.

Перспективи подальших досліджень.

Вивчення вітаміну D у патогенезі преєклампсії сприяє розробці нових підходів до профілактики й лікування для зниження материнських і перинатальних ризиків.

References / Література

- Nirupama R, Divyashree S, Janhavi P, Muthukumar SP, Ravindra PV. Preeclampsia: Pathophysiology and management. J Gynecol Obstet Hum Reprod. 2021;50(2):101975. DOI: [10.1016/j.jogoh.2020.101975](https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2020.101975).
- Tomimatsu T, Mimura K, Matsuzaki S, Endo M, Kumasawa K, Kimura T. Preeclampsia: Maternal Systemic Vascular Disorder Caused by Generalized Endothelial Dysfunction Due to Placental Antiangiogenic Factors. Int J Mol Sci. 2019;20(17):4246. DOI: [10.3390/ijms20174246](https://doi.org/10.3390/ijms20174246).
- Gyselaers W. Preeclampsia Is a Syndrome with a Cascade of Pathophysiologic Events. J Clin Med. 2022;9(7):2245. DOI: [10.3390/jcm9072245](https://doi.org/10.3390/jcm9072245).
- Suresh S, Patel E, Mueller A, Morgan J, Lewandowski WL, Verlohren S, et al. The Additive Role of Angiogenic Markers for Women with Confirmed Preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2023;228:573.e1–11.

5. Kiely ME, Wagner CL, Roth DE. Vitamin D in pregnancy: Where we are and where we should go. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2020;201:105669. DOI: [10.1016/j.jsbmb.2020.105669](https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2020.105669).
6. Ni M, Zhang Q, Zhao J, Shen Q, Yao D, Wang T, et al. Relationship between maternal vitamin D status in the first trimester of pregnancy and maternal and neonatal outcomes: a retrospective single center study. *BMC Pediatr*. 2021;21(1):330. DOI: [10.1186/s12887-021-02730-z](https://doi.org/10.1186/s12887-021-02730-z).
7. Morales-Suárez-Varela M, Uçar N, Soriano JM, Llopis-Morales A, Sanford BS, Grant WB. Vitamin D-Related Risk Factors for Maternal Morbidity and Mortality during Pregnancy: Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2022;14(19):4124. DOI: [10.3390/nu14194124](https://doi.org/10.3390/nu14194124).
8. Mansur JL, Oliveri B, Giacoia E, Fusaro D, Costanzo PR. Vitamin D: Before, during and after Pregnancy: Effect on Neonates and Children. *Nutrients*. 2022;14(9):1900. DOI: [10.3390/nu14091900](https://doi.org/10.3390/nu14091900).
9. Vivanti AJ, Monier I, Salakos E, Elie C, Tsatsaris V, Senat MV, et al. Vitamin D and pregnancy outcomes: Overall results of the FEPED study. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2020;49(8):101883. DOI: [10.1016/j.jogoh.2020.101883](https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2020.101883).
10. 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](https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1238389).
11. Mao D, Yuen LY, Ho CS, Wang CC, Tam CH, Chan MH, et al. The Association of Prenatal Vitamin D Status With Pregnancy and Neonatal Outcomes. *J Endocr Soc*. 2023;8(1):bvad142. DOI: [10.1210/endo/bvad142](https://doi.org/10.1210/endo/bvad142).
12. 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):bvab170. DOI: [10.1210/endo/bvab170](https://doi.org/10.1210/endo/bvab170).
13. Pankiewicz K, Fijałkowska A, Issat T, Maciejewski TM. Insight into the Key Points of Preeclampsia Pathophysiology: Uterine Artery Remodeling and the Role of MicroRNAs. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6):3132. DOI: [10.3390/ijms22063132](https://doi.org/10.3390/ijms22063132).
14. Chiarello DI, Abad C, Rojas D, Toledo F, Vázquez CM, Mate A, et al. Oxidative stress: Normal pregnancy versus preeclampsia. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866(2):165354. DOI: [10.1016/j.bbadis.2018.12.005](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.12.005).
15. Rana S, Burke SD, Karumanchi SA. Imbalances in circulating angiogenic factors in the pathophysiology of preeclampsia and related disorders. *Am J Obstet Gynecol*. 2022;226(2S):S1019-S1034. DOI: [10.1016/j.ajog.2020.10.022](https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.10.022).
16. Benachi A, Baptiste A, Taieb J, Tsatsaris V, Guibourdenche J, Senat MV, et al. Relationship between vitamin D status in pregnancy and the risk for preeclampsia: A nested case-control study. *Clin Nutr*. 2020;39(2):440-446. DOI: [10.1016/j.clnu.2019.02.015](https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.02.015).
17. Raia-Barjat T, Sarkis C, Rancon F, Thibaudin L, Gris JC, Alfaidy N, et al. Vitamin D deficiency during late pregnancy mediates placenta-associated complications. *Sci Rep*. 2021;11(1):20708. DOI: [10.1038/s41598-021-00250-5](https://doi.org/10.1038/s41598-021-00250-5).
18. Aguilar-Cordero MJ, Lasserrot-Cuadrado A, Mur-Villar N, León-Ríos XA, Rivero-Blanco T, Pérez-Castillo IM. Vitamin D, preeclampsia and prematurity: A systematic review and meta-analysis of observational and interventional studies. *Midwifery*. 2020;87:102707. DOI: [10.1016/j.midw.2020.102707](https://doi.org/10.1016/j.midw.2020.102707).
19. Yuan Y, Tai W, Xu P, Fu Z, Wang X, Long W, et al. Association of maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations with risk of preeclampsia: a nested case-control study and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2021;34(10):1576-1585. DOI: [10.1080/14767058.2019.1640675](https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1640675).
20. Hu KL, Zhang CX, Chen P, Zhang D, Hunt S. Vitamin D Levels in Early and Middle Pregnancy and Preeclampsia, a Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2022;14(5):999. DOI: [10.3390/nu14050999](https://doi.org/10.3390/nu14050999).
21. Dahma G, Neamtu R, Nitu R, Gluhovschi A, Bratosin F, Grigoras ML, et al. The Influence of Maternal Vitamin D Supplementation in Pregnancies Associated with Preeclampsia: A Case-Control Study. *Nutrients*. 2022;14(15):3008. DOI: [10.3390/nu14153008](https://doi.org/10.3390/nu14153008).
22. Huang XM, Liu YH, Zhang H, Cao Y, Dou WF, Duan DD, et al. Dietary and serum vitamin D and preeclampsia risk in Chinese pregnant women: a matched case-control study. *Br J Nutr*. 2022;128(1):84-92. DOI: [10.1017/S0007114521002956](https://doi.org/10.1017/S0007114521002956).
23. MOZ Ukrainy. Nakaz MOZ Ukrainy № 151 Pro zatverdzhennia Unifikovanyi klinichniy protokol pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) ta tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy Hipertenzivni rozlady pid chas vahitnosti polohiv ta u pislyapolohovomu periodi. Kyiv: MOZ Ukrainy; 2022. 56 s. Dostupno: https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2022/01/2022_151_ykpmid_giprozlvagitn.pdf. [in Ukrainian].
24. Rouhani P, Mokhtari E, Lotfi K, Saneei P. The association between circulating 25-hydroxyvitamin D levels and preeclampsia: a systematic review and dose-response meta-analysis of epidemiologic studies with GRADE assessment. *Nutr Rev*. 2023;81(10):1267-1289. DOI: [10.1093/nutrit/nuad006](https://doi.org/10.1093/nutrit/nuad006).
25. Ashley B, Simner C, Manousopoulou A, Jenkinson C, Hey F, Frost JM, et al. Placental uptake and metabolism of 25(OH)vitamin D determine its activity within the fetoplacental unit. *Elife*. 2022;11:e71094. DOI: [10.7554/eLife.71094](https://doi.org/10.7554/eLife.71094).
26. Verlohren S, Droge LA. The diagnostic value of angiogenic and antiangiogenic factors in differential diagnosis of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;226:S1048-1058.
27. Zhou Q, Wu Y, Zhang D. Exploring the role of T helper subgroups and their cytokines in the development of pregnancy-induced hypertension. *Front Immunol*. 2023;14:1126784. DOI: [10.3389/fimmu.2023.1126784](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1126784).
28. Varshney S, Adela R, Kachhawa G, Dada R, Kulshreshtha V, Kumari R, et al. Disrupted placental vitamin D metabolism and calcium signaling in gestational diabetes and pre-eclampsia patients. *Endocrine*. 2023;80(1):191-200. DOI: [10.1007/s12020-022-03272-9](https://doi.org/10.1007/s12020-022-03272-9).
29. Wang Y, Wang T, Huo Y, Liu L, Liu S, Yin X, et al. Placenta expression of vitamin D and related genes in pregnant women with gestational diabetes mellitus. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2020;204:105754. DOI: [10.1016/j.jsbmb.2020.105754](https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2020.105754).
30. Pineda-Lancheros LE, Gálvez-Navas JM, Rojo-Tolosa S, Membrive-Jiménez C, Valverde-Merino MI, Martínez-Martínez F, et al. Polymorphisms in VDR, CYP27B1, CYP2R1, GC and CYP24A1 Genes as Biomarkers of Survival in Non-Small Cell Lung Cancer: A Systematic Review. *Nutrients*. 2023;15(6):1525. DOI: [10.3390/nu15061525](https://doi.org/10.3390/nu15061525).

ДЕФІЦИТ ВІТАМІНУ D ЯК ФАКТОР РИЗИКУ ПРЕЕКЛАМПСІЇ: РОЛЬ РЕЦЕПТОРА ВІТАМІНУ D ТА ЦИТОХРОМУ P450 РОДИНИ 27 ЧЛЕН ПІДРОДИНИ B 1

Поладич І. В., Говсєєв Д. О.

Резюме. Прееклампсія (ПЕ) залишається одним із найсерйозніших ускладнень вагітності, що значно підвищує ризик материнської та перинатальної смертності. За даними ВООЗ, гіпертензивні розлади вагітності спричиняють 14% материнських смертей у світі. Етіологія захворювання складна і багатофакторна, але однією з ключових ланок патогенезу є порушення плацентації та супутній дефіцит вітаміну D (VD). Вітамін D бере участь у регуляції імунних, ендокринних та судинних процесів, які є критично важливими для нормального перебігу вагітності. Дефіцит VD пов'язаний із порушенням ранньої інвазії трофобласту, що призводить до гіпоксії плаценти, ендотеліальної дисфункції та формування прееклампсії. Однак зв'язок між рівнем VD і експресією ключових генів у плацентарній тканині, таких як VDR і CYP27B1, потребує подальшого вивчення.

Мета. Оцінити взаємозв'язок між рівнем 25(OH)D у крові та експресією генів VDR (рецептор вітаміну D) і CYP27B1 (1 α -гідроксилаза) у плацентарній тканині вагітних із прееклампсією для визначення їх ролі у патогенезі захворювання.

Об'єкт і методи дослідження: Дослідження було проведене у КНП «Перинатальний центр м. Київ» із вересня 2022 року по жовтень 2024 року. До нього залучено 98 вагітних жінок, які перебували під спостереженням у центрі. Основна група складалася з 75 жінок із прееклампсією. Їх було поділено на дві підгрупи залежно від рівня 25(OH)D у крові: I група (n=36) – вагітні з дефіцитом вітаміну D (<20 нг/мл). II група (n=32) – вагітні з

нормальним рівнем вітаміну D (>30 нг/мл). Контрольну групу склали 30 вагітних із фізіологічним перебігом вагітності та оптимальним рівнем VD. Визначення рівня 25(OH)D проводилося методом імуноферментного аналізу (ІФА). Зразки плацентарної тканини досліджували за допомогою qPCR для оцінки експресії генів VDR та CYP27B1. Концентрація білків VDR та CYP27B1 визначалася методом ELISA. Статистичний аналіз виконували за допомогою програм MedStat v.5.2 та EZR v.3.4.1. Дані порівнювали за допомогою U-тесту Манна-Уїтні, t-критерію Стюдента та рангового аналізу Спірмена. Значення $p < 0,05$ вважали статистично значущими.

Результати та їх обговорення. У групі з дефіцитом VD (І група) середній рівень 25(OH)D склав $11,93 \pm 0,59$ нг/мл, що суттєво нижче, ніж у контрольній групі ($33,9 \pm 0,32$ нг/мл). У ІІ групі середній рівень 25(OH)D становив $34,46 \pm 0,88$ нг/мл. Середній вік вагітних у І групі був нижчим ($28,86 \pm 0,67$ років), ніж у контрольній групі ($31,27 \pm 0,99$ років). ІМТ вагітних із дефіцитом VD був вищим ($27,85 \pm 0,34$ кг/м²), порівняно з контрольною групою ($26,54 \pm 0,29$ кг/м²). Ранній початок (<34 тижнів) спостерігався у 63,9% випадків у І групі проти 46,9% у ІІ групі. Тяжка форма пreeклампсії частіше діагностувалася у вагітних із дефіцитом VD (58,3% проти 40,6% у ІІ групі). Експресія генів VDR та CYP27B1 у плацентарній тканині була значно нижчою у вагітних із дефіцитом VD: VDR: 0,95 (0,91-1,08) у І групі проти 1,22 (1,15-1,29) у контрольній. CYP27B1: 1,04 (0,96-1,12) у І групі проти 1,06 (0,97-1,17) у контрольній. Рівні білків VDR та CYP27B1 також були нижчими у І групі: VDR: 2,32 (1,11-2,52) нг/мл у І групі проти 3,41 (2,83-3,91) нг/мл у контрольній. CYP27B1: 4,34 (4,20-5,15) нг/мл у І групі проти 5,23 (4,67-5,83) нг/мл у контрольній.

Висновки. Дефіцит вітаміну D частіше спостерігається у молодих вагітних (<30 років) із підвищеним ІМТ. Низький рівень 25(OH)D (<20 нг/мл) асоціюється з тяжким перебігом пreeклампсії, зокрема її раннім початком (<34 тижнів) і тяжкою формою. Зниження експресії генів VDR і CYP27B1 та концентрації відповідних білків у плацентарній тканині вагітних із дефіцитом VD підтверджує їх роль у патогенезі пreeклампсії. Моніторинг та корекція рівня вітаміну D у вагітних є необхідними для зниження ризику ускладнень, пов'язаних із пreeклампсією. Отримані дані підкреслюють важливість включення вітаміну D до протоколів профілактики та лікування пreeклампсії.

Ключові слова: вітамін D, дефіцит вітаміну D, пreeклампсія, плацента, VDR, CYP27B.

VITAMIN D DEFICIENCY AS A RISK FACTOR FOR PREECLAMPSIA: THE ROLE OF VITAMIN D RECEPTOR AND CYTOCHROME P450 FAMILY 27 SUBFAMILY B MEMBER 1

Poladych I. V., Govsiev D. O.

Abstract. Preeclampsia (PE) remains one of the most serious pregnancy complications, significantly increasing the risk of maternal and perinatal mortality. According to the WHO, hypertensive disorders in pregnancy account for 14% of maternal deaths worldwide. The etiology of PE is complex and multifactorial, but one of the key pathogenic links is impaired placentation and the associated deficiency of vitamin D (VD). Vitamin D plays a crucial role in regulating immune, endocrine, and vascular processes essential for normal pregnancy. VD deficiency is associated with impaired early trophoblast invasion, leading to placental hypoxia, endothelial dysfunction, and the development of preeclampsia. However, the relationship between VD levels and the expression of key placental genes, such as VDR and CYP27B1, requires further investigation.

Aim. To evaluate the relationship between serum 25(OH)D levels and the expression of VDR (vitamin D receptor) and CYP27B1 (1 α -hydroxylase) genes in placental tissue of pregnant women with preeclampsia to determine their role in the pathogenesis of the disease.

Object and research methods. The study was conducted at the Kyiv Perinatal Center from September 2022 to October 2024 and included 98 pregnant women under observation. The main group consisted of 75 women diagnosed with preeclampsia. They were divided into two subgroups based on serum 25(OH)D levels: Group I ($n=36$) – pregnant women with vitamin D deficiency (<20 ng/mL). Group II ($n=32$) – pregnant women with normal vitamin D levels (>30 ng/mL). The control group included 30 pregnant women with an uncomplicated pregnancy and optimal VD levels. Serum 25(OH)D levels were determined using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Placental tissue samples were analyzed via qPCR to assess the expression of VDR and CYP27B1 genes. Protein concentrations of VDR and CYP27B1 were measured using ELISA. Statistical analysis was performed using MedStat v.5.2 and EZR v.3.4.1. The Mann-Whitney U test, Student's t-test, and Spearman's rank correlation analysis were used for data comparison, with $p < 0.05$ considered statistically significant.

Research results and their discussion. In the VD-deficient group (Group I), the mean 25(OH)D level was 11.93 ± 0.59 ng/mL, significantly lower than in the control group (33.9 ± 0.32 ng/mL). The mean 25(OH)D level in Group II was 34.46 ± 0.88 ng/mL. Pregnant women in Group I were younger (28.86 ± 0.67 years) than those in the control group (31.27 ± 0.99 years). The BMI of VD-deficient pregnant women was higher (27.85 ± 0.34 kg/m²) compared to the control group (26.54 ± 0.29 kg/m²). Early-onset PE (<34 weeks) occurred in 63.9% of cases in Group I versus 46.9% in Group II. Severe preeclampsia was more frequently diagnosed in VD-deficient women (58.3% vs. 40.6% in Group II). The expression of VDR and CYP27B1 genes in placental tissue was significantly lower in VD-deficient pregnant women: VDR: 0.95 (0.91-1.08) in Group I vs. 1.22 (1.15-1.29) in the control group. CYP27B1: 1.04 (0.96-1.12) in Group I vs. 1.06 (0.97-1.17) in the control group. Protein levels of VDR and CYP27B1 were also lower in Group I: VDR: 2.32 (1.11-2.52) ng/mL in Group I vs. 3.41 (2.83-3.91) ng/mL in the control group. CYP27B1: 4.34 (4.20-5.15) ng/mL in Group I vs. 5.23 (4.67-5.83) ng/mL in the control group.

Conclusions. Vitamin D deficiency is more common in younger pregnant women (<30 years) with an elevated BMI. Low 25(OH)D levels (<20 ng/mL) are associated with a more severe course of preeclampsia, including early onset (<34 weeks) and severe forms. Reduced expression of VDR and CYP27B1 genes and lower protein concentrations in placental tissue of VD-deficient pregnant women confirm their role in PE pathogenesis. Monitoring and cor-

recting vitamin D levels in pregnant women is necessary to reduce the risk of preeclampsia-related complications. The obtained data emphasize the importance of including vitamin D in preeclampsia prevention and treatment protocols.

Key words: vitamin D, vitamin D deficiency, preeclampsia, placenta, VDR, CYP27B.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та його внесок до статті:

Poladych I. V.: <https://orcid.org/0000-0002-8494-2534> ^{ABCDEF}

Govsiev D.O.: <https://orcid.org/0000-0001-9669-0218> ^{ABCDEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Poladych Iryna Volodymyrivna / Поладич Ірина Володимирівна

Bogomolets National Medical University / Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
Ukraine, 03150, Kyiv, 9 Predslavinska str. / Адреса: Україна, 03150, м. Київ, вул. Предславинська 9

Tel.: 0974668872 / Тел.: 0974668872

E-mail: iren.poladich@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статистичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 27.10.2024 / Стаття надійшла 27.10.2024 року

Accepted 24.02.2025 / Стаття прийнята до друку 24.02.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-1-176-297-305

UDC 615.099:599.323.452:591.424

^{1,2}*Pshychenko V. V., ¹Cherno V. S., ¹Chebota L. D., ²Naidich O. V., ²Petrova O. I.*

PROOXIDANT STATE OF RAT LUNG TISSUE UNDER CONDITIONS OF CADMIUM CHLORIDE INTOXICATION AND CORRECTION WITH MELATONIN

¹Petro Mohyla Black Sea National University (Mykolaiv, Ukraine)

²Mykolayiv National Agrarian University (Mykolaiv, Ukraine)

pshychenko85@gmail.com

Heavy metals are the most common environmental pollutants and pose a serious threat to public health. Cadmium compounds are particularly dangerous because they have a long half-life in the body. Today, in the conditions of military operations taking place on the territory of Ukraine, cadmium enters the body in quantities that can significantly exceed the maximum permissible standards. Accumulating in the body, cadmium stimulates the development of oxidative stress and can lead to diseases of vital organs, including the lungs, a decrease in their function, and death. Therefore, a pressing issue is the search for effective ways to correct pathological changes caused by the toxic effects of cadmium and oxidative stress. To correct disorders that arise as a result of oxidative stress, drugs with antioxidant properties are used. One of the antioxidants that absorbs free radicals well and has a wide range of therapeutic effects is the pineal gland hormone melatonin. The aim of the work was to study the features of changes in the functional state of the prooxidant system of the lungs of rats under conditions of cadmium chloride intoxication and to substantiate the possibility of their correction with melatonin.

The studies were conducted on 36 sexually mature white male Wistar rats, which were divided into six groups – a control group and five experimental groups. Animals of the first (control) group were kept in standard vivarium conditions without the influence of additional factors. Animals of the second, third, fourth, and fifth groups were intraperitoneally administered a 0.029% aqueous solution of cadmium chloride at a rate of 1.2 mg/kg of animal body weight, which would cause lung damage. For the purpose of comparative analysis of biochemical parameters, rats from the experimental groups were withdrawn from the experiment at different times during the study. Metabolic changes were examined on the 7th, 14th, 21st, and 28th days of the study. Rats of the sixth group were administered 1.2 mg/kg of body weight of the animal with a solution of cadmium chloride for 28 days and, in order to correct pathological changes caused by cadmium, melatonin was administered intraperitoneally at a dose of 3.0 mg/kg of body weight for 10 days (from the 19th to the 28th day of the study).

It was found that the administration of cadmium chloride was accompanied by an intensification of lipoperoxidation processes, which was manifested by an increase in the content of diene conjugates and malondialdehyde in lung homogenates at all study periods. The introduction of exogenous melatonin contributed to a decrease in the content of primary and secondary products of lipid peroxidation, which indicates a slowdown in free radical processes. Therefore, melatonin is a potentially useful drug for reducing the manifestations of oxidative stress caused by cadmium chloride exposure in lung tissue.

Key words: cadmium chloride, rats, lungs, diene conjugates, malondialdehyde.