

„Częstość występowania wybranych wariantów polimorficznych genów szlaku angiogenezy oraz ocena ich łożyskowej ekspresji w grupie kobiet po zastosowaniu technik wspomaganego rozrodu”

Aleksandra Mrozikiewicz

W ostatnich latach postęp w zakresie technologii wspomaganego rozrodu (ART - *artificial reproductive technology*) pozwala na znaczną poprawę wyników, szybsze uzyskanie ciąży i urodzenie zdrowego dziecka. Poważnym problemem w leczeniu niepłodności są jednak nawracające niepowodzenia implantacji (RIF), które dotyczą około 10% niepłodnych par.

W czasie ciąży odpowiednie unaczynienie łożyska ma kluczowe znaczenie dla prawidłowej wymiany matczyno-płodowej. Dlatego kluczowym procesem zapewniającym efektywny rozwój łożyska przez cały okres ciąży są waskulo- i angiogeneza. W procesach tych olbrzymią rolę odgrywają naczyniowo-śródbłonkowe czynniki wzrostu (VEGFs - *vascular endothelial growth factors*) oraz czynniki wzrostu fibroblastów (FGFs - *fibroblast growth factors*) oraz ich receptory fms-podobna kinaza tyrozynowa 1 (FLT1 - *fms related receptor tyrosine kinase 1*) i receptor zawierający wstawkę kinazy (KDR - *kinase insertion domain receptor*).

Celem przeprowadzonych badań była ocena częstości występowania wybranych wariantów polimorficznych genów szlaku angiogenezy oraz ocena ich łożyskowej ekspresji w grupie kobiet po zastosowaniu technik wspomaganego rozrodu.

Analiza związku 5 wariantów polimorficznych genów angiogenezy, (*VEGF-A rs699947, FLT1 rs722503, KDR rs2071559, KDR rs1870377, FGF2 rs308395*) z ryzykiem wystąpienia RIF pokazała możliwy udział polimorfizmów niektórych genów w etiologii tego powikłania. Asocjacje wariantów polimorficznych genów szlaku angiogenezy z niepłodnością i nawracającymi niepowodzeniami implantacji przeprowadzono metodą reakcji łańcuchowej polimerazy/polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP - *polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism*). W grupie 247 kobiet poddawanych procedurom IVF i 120 zdrowych kobiet wariant genu receptora *KDR* (rs2071559) wiązał się ze zwiększonym ryzykiem niepłodności po skorygowaniu danych o wiek i BMI (OR=0,64; 95%CI: 0,45–0,91, $p=0,013$ w modelu log-addytywnym). Zaobserwowano również istotną statystycznie różnicę w zakresie polimorfizmu *VEGFA 2578C>A* (rs699947) pomiędzy pacjentkami po leczeniu niepłodności. Wariant ten wiązał się ze zwiększonym ryzykiem RIF w przypadku modelu dominującego (OR=2,34, $p=0,023$, $padj.=0,022$) i log-addytywnego (OR=0,65, $p=0,040$, $padj.=0,038$). Warianty rs1870377 oraz rs2071559 genu receptora *KDR* w całej grupie badanej pozostawały w równowadze sprzężeń (*linkage equilibrium*) ($D'=0,25$, $r^2=0,025$). Zaobserwowano najsilniejszą interakcję pomiędzy wariantami rs2071559-rs1870377 genu *KDR* ($p=0,004$) oraz wariantami *KDR* rs1870377 - *VEGFA* rs699947 ($p=0,030$). W badaniu pokazano, że wariant rs2071559 genu *KDR* może być związany z ryzykiem niepłodności oraz wariant rs699947 *VEGFA* ze zwiększonym ryzykiem RIF w grupie niepłodnych kobiet z populacji polskiej leczonych technikami IVF.

Kolejnym celem badania było określenie różnic w profilach ekspresji genów związanych z angiogenezą (*VEGFA, FGF2, FLT1 i KDR*) w łożyskach po zapłodnieniu metodą wspomaganego rozrodu i naturalnym poczęciu u zdrowych kobiet (20 kobiet po zapłodnieniu metodami wspomaganego rozrodu oraz 9 kobiet po zapłodnieniu naturalnym). W łożyskach pochodzących z ciąży po procedurze IVF zaobserwowano istotnie zmniejszoną ekspresję genu *VEGFA* ($p=0,016$) i zwiększoną ekspresję genów receptorów *FLT1* ($p=0,026$) i *KDR* ($p<0,001$). Ekspresja genów kodujących receptory VEGF-A była zwiększona zarówno w grupach, w których przeprowadzano transfer zarodków świeżych (ET - *embryon transfer*), jak i mrożonych (FET - *frozen embryon transfer*) w porównaniu z grupą kontrolną. W przypadku genu *FLT1* zaobserwowano statystycznie istotną różnicę pomiędzy grupą, której przeniesiono zamrożone zarodki a kontrolną ($p=0,032$). Względna ekspresja genu receptora *KDR* była istotnie wyższa w obu grupach z transferem zarodków w porównaniu z grupą kontrolną ($p<0,001$). Różnice w ekspresji genu *KDR* odnotowano również pomiędzy grupą z transferem zarodków ET i FET ($p=0,002$). Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie przy porównaniu ekspresji badanych genów w części brzeżnej i środkowej łożyska dla całej grupy ($n=29$). Zarówno miejsce pobrania tkanki łożyska jak i płeć noworodków nie wpływały istotnie na ekspresję badanych genów.

Wnioski

Analiza polimorfizmu -604T>C (rs2071559) genu *KDR* wykazała jego możliwy wpływ na zwiększenie ryzyka wystąpienia niepłodności u kobiet. Nosicielstwo wariantu -2578A genu *VEGFA* może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia nawracających niepowodzeń implantacji (RIF) w grupie badanych pacjentek leczonych z powodu niepłodności. Zastosowanie procedury zapłodnienia *in vitro* może wpływać na istotne zmniejszenie ekspresji genu *VEGFA* w łożysku. Istnieje potencjalny wpływ na zwiększenie ekspresji genu *FLT1* w łożyskach pochodzących z ciąży, w których podano zarodki mrożone oraz na zwiększenie ekspresji łożyskowej genu *KDR* w grupach, w których podano zarodki świeże i mrożone. Ekspresja analizowanych genów szlaku angiogenezy wydaje się nie być zależna od płci noworodka oraz miejsca pobrania tkanki z łożyska.

A. Mrozikiewicz