УДК 618.25-06:618.36:612.135
DOI https://doi.org/10.32782/2226-2008-2026-3-4

О. П. Ліпко[1] *http://orcid.org/0000-0001-6462-3563*
Л. В. Потапова[1] *http://orcid.org/0000-0002-2022-5333*
Т. М. Михальчук[2] *http://orcid.org/0000-0002-6396-470X*
О. А. Семенченко[2] *http://orcid.org/0000-0002-1263-2772*
О. С. Прокопюк[2] *http://orcid.org/0000-0002-3155-7755*
Д. М. Щербина[3] *http://orcid.org/0009-0003-6019-0977*

ЕНДОТЕЛІАЛЬНИЙ ТА АНГІОГЕННИЙ ДИСБАЛАНС У ПАТОГЕНЕЗІ СИНДРОМУ ФЕТО-ФЕТАЛЬНОЇ ТРАНСФУЗІЇ

[1] Харківський національний медичний університет, Харків, Україна
[2] Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії медичних наук України, Харків, Україна
[3] Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна

УДК 618.25-06:618.36:612.135

О. П. Ліпко[1], Л. В. Потапова[1], Т. М. Михальчук[2], О. А. Семенченко[2], О. С. Прокопюк[2], Д. М. Щербина[3]

ЕНДОТЕЛІАЛЬНИЙ ТА АНГІОГЕННИЙ ДИСБАЛАНС У ПАТОГЕНЕЗІ СИНДРОМУ ФЕТО-ФЕТАЛЬНОЇ ТРАНСФУЗІЇ

[1] Харківський національний медичний університет, Харків, Україна
[2] Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії медичних наук України, Харків, Україна
[3] Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна

У роботі обстежено 51 пацієнтку з багатоплідною вагітністю різної хоріальності та 34 жінки з одноплідною вагітністю. Поряд із загальноприйнятими клініко-лабораторними й ультразвуковими методами дослідження визначали рівні ангіогенних і антиангіогенних факторів росту, а також оцінювали співвідношення ендотеліальних факторів, що беруть участь у регуляції судинного тонусу. Додатково проведено мікроморфометричне дослідження плацент із метою виявлення структурних особливостей, асоційованих із перебігом багатоплідної вагітності та розвитком синдрому фето-фетальної трансфузії (СФФТ).

Отримані результати дали змогу виявити взаємозв'язки між змінами ангіогенних та ендотеліальних факторів і морфологічними характеристиками плаценти, що стало підґрунтям для формування гіпотетичної концептуальної моделі патогенезу СФФТ. Водночас виявлені асоціації доцільно розглядати як підставу для патогенетичної гіпотези, а не як безпосередній доказ причинно-наслідкових механізмів розвитку синдрому.

Ключові слова: фето-фетальний трансфузійний синдром, ангіогенний, антиангіогенний, фактори росту, ендотеліальна дисфункція, морфометрія плацент.

UDC 618.25-06:618.36:612.135

O. P. Lipko[1], L. V. Potapova[1], T. M. Mykhalchuk[2], O. A. Semenchenko[2], O. S. Prokopyuk[2], D. M. Shcherbina[3]

ENDOTHELIAL AND ANGIOGENIC IMBALANCE IN THE PATHOGENESIS OF TWIN-TO-TWIN TRANSFUSION SYNDROME

[1] Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine
[2] Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[3] Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Introduction. Fetofetal transfusion syndrome (FFTS) is a severe complication of monochorionic multiple pregnancy. The mechanisms of its development have not been fully elucidated, which justifies the study of the relationship between angiogenic imbalance, endothelial dysfunction, and morphological changes in the placenta.

Objective. To assess the relationship of angiogenic, antiangiogenic, and endothelial factors with the morphological features of the placenta in FFTS and to develop a conceptual model of its pathogenesis.

Materials and Methods. A single-center prospective cohort comparative study was conducted involving 85 pregnant women at 20–25 weeks of gestation: 21 women with dichorionic diamniotic twins (Group 1, Control 1), 16 with monochorionic diamniotic twins without FFTS (Group 2), 14 with Stage I FFTS (Group 3), and 34 women with singleton pregnancies (Group 4, Control 2). Serum levels of VEGF, PlGF, sFlt-1, sEng, endothelin-1, and nitric oxide (NO) metabolites were determined. After delivery, placental micromorphometry was performed, and placental vascular architecture was assessed. Statistical analysis included between-group comparisons, correlation analysis, and ROC analysis.

Results. In FFTS, increased levels of VEGF, sFlt-1, sEng, and endothelin-1 were detected against a background of decreased NO metabolites. The proportion of superficial arterio-arterial anastomoses was approximately 3.5 times lower, and the total placental vascular volume was reduced compared with pregnancies with monochorionic twins without FFTS. Relationships between biochemical and morphological parameters were established. VEGF levels above 205 pg/mL and endothelin-1 levels above 1.19 pg/mL were identified as promising candidates for further investigation as biomarkers of FFTS.

© О. П. Ліпко, Л. В. Потапова, Т. М. Михальчук та ін., 2026

Стаття поширюється на умовах ліцензії

Conclusions. FFTS is associated with impaired angiogenic and endothelial homeostasis and changes in placental vascular architecture. The proposed model reflects the possible interaction of hemodynamic, angiogenic, and vasoregulatory mechanisms in the pathogenesis of the syndrome. The identified associations and potential biomarkers require further validation.

Keywords: fetofetal transfusion syndrome, angiogenic factors, antiangiogenic factors, growth factors, endothelial dysfunction, placental morphometry.

Вступ

Синдром фето-фетальної трансфузії (СФФТ) є одним із найтяжчих ускладнень монохоріальної багатоплідної вагітності та залишається однією з провідних причин перинатальної захворюваності та смертності, незважаючи на суттєвий прогрес у пренатальній діагностиці й розвитку фетальної хірургії.

Традиційно розвиток СФФТ пов'язують із наявністю незбалансованих артеріовенозних анастомозів у монохоріальній плаценті, через які формується хронічний нетто-перетік крові між плодами. Проте сучасні морфологічні дослідження свідчать, що різні типи плацентарних судинних анастомозів виявляються практично в усіх монохоріальних двійнях незалежно від розвитку синдрому [1–5]. Отже, сама наявність судинних сполучень не може розглядатися як єдина причина розвитку захворювання, а свідчить про існування більш ранніх молекулярних механізмів, які визначають особливості ангіогенезу, архітектоніку плацентарної судинної мережі та характер її подальшого ремоделювання.

Наявні моделі патогенезу не повністю пояснюють, чому клінічно значущий СФФТ розвивається лише в 10–15 % монохоріальних двієнь, тимчасом у переважної більшості вагітностей із монохоріальною плацентацією, незважаючи на наявність судинних анастомозів, клінічної маніфестації захворювання не виникає [1–5].

Останніми роками накопичено значний обсяг даних щодо ролі ангіогенних факторів (VEGF, PlGF, sFlt-1, Ang-1, Ang-2, Tie-2), регуляторів ендотеліальної функції (оксид азоту, ендотелін-1), факторів гіпоксичної відповіді (HIF-1α), а також молекулярних механізмів артеріовенозної специфікації ендотелію (Dll4/Notch, Ephrin-B2/EphB4, COUP-TFII) у формуванні плацентарної судинної мережі [6–16]. Водночас результати цих досліджень залишаються неоднозначними. Для більшості ангіогенних факторів описано як підвищення, так і зниження експресії на тлі СФФТ, що, ймовірно, відображає не відсутність їхньої патогенетичної ролі, а складність взаємодії між окремими ланками патологічного процесу [5; 6].

На нашу думку, однією з причин такої суперечливості є те, що більшість досліджень аналізують окремі молекулярні фактори ізольовано, тоді як патогенез СФФТ є послідовним каскадом взаємопов'язаних молекулярних, морфологічних і гемодинамічних подій, який розпочинається задовго до клінічної маніфестації захворювання. Саме тому зміни концентрації VEGF, PlGF, sFlt-1 та інших біомаркерів можуть відображати різні стадії одного патологічного процесу та різні ступені компенсаторних можливостей монохоріальної плаценти.

Окрему увагу сучасні дослідження приділяють міжклітинній комунікації в плаценті. Встановлено, що трофобласт, ендотеліальні клітини та інші компоненти плацентарної тканини активно секретують позаклітинні везикули (екзосоми), які містять білки, фактори росту, мікроРНК та інші регуляторні молекули. Саме екзосоми забезпечують міжклітинне перенесення біологічної інформації та здатні модулювати процеси ангіогенезу, запалення, оксидативного стресу й ремоделювання судин. Особливий інтерес викликають плацентарні мікроРНК, які регулюють експресію VEGF, HIF-1α, eNOS, компонентів системи TGF-β та інших сигнальних каскадів, що визначають розвиток судинної мережі плаценти. Сьогодні ці молекули розглядаються як перспективні ранні біомаркери плацентарної дисфункції та можливі терапевтичні мішені [9; 12].

Разом із тим роль зазначених молекулярних механізмів у розвитку синдрому фето-фетальної трансфузії залишається недостатньо вивченою. Більшість опублікованих досліджень присвячені лише окремим компонентам ангіогенезу або аналізу архітектоніки плацентарних анастомозів, тоді як комплексна оцінка взаємозв'язку між ангіогенними й антиангіогенними факторами, ендотеліальною дисфункцією і морфологічними змінами плаценти практично відсутня.

Метою цього дослідження було оцінити взаємозв'язок між ангіогенними, антиангіогенними й ендотеліальними факторами та морфологічними особливостями плаценти у вагітних із СФФТ, узагальнити сучасні дані щодо ролі ангіогенного й ендотеліального гомеостазу в патогенезі СФФТ, провести критичний аналіз сучасних уявлень про механізми формування плацентарної судинної мережі в разі монохоріальної вагітності та представити авторську концептуальну модель, яка інтегрує ембріологічні, молекулярні, морфологічні та клінічні дані в єдиний послідовний патогенетичний каскад розвитку синдрому.

Матеріали та методи дослідження

Роботу виконано як одноцентрове проспективне когортне порівняльне дослідження, проведене на базі Харківського національного медичного університету та Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

До дослідження було залучено 85 вагітних, які перебували під спостереженням у термін гестації 20–25 тижнів. Учасниці були розподілені на чотири клінічні групи:

1-ша група – 21 вагітна з дихоріальною діамніотичною двійнею (контрольна група 1);

2-га група – 16 вагітних із монохоріальною діамніотичною двійнею без СФФТ;

3-тя група – 14 вагітних із монохоріальною діамніотичною двійнею, ускладненою СФФТ;

4-та група – 34 жінки з фізіологічною одноплідною вагітністю (контрольна група 2).

До дослідження включали вагітних, які відповідали таким критеріям

– вік 18–38 років;
– термін гестації 20–25 тижнів;
– підтверджена ультразвуковим дослідженням (УЗД) хоріальність вагітності;

– одноплідна або двоплідна вагітність без вроджених вад розвитку плодів;

– добровільна письмова інформована згода на участь у дослідженні.

В основній групі додатковою підставою для включення була наявність СФФТ I стадії відповідно до ультразвукових критеріїв.

Із дослідження виключали пацієнток із такими критеріями:

– прееклампсією;

– хронічною артеріальною гіпертензією;

– цукровим діабетом;

– автоімунними захворюваннями;

– тяжкою патологією серцево-судинної системи;

– гострими або хронічними інфекційними захворюваннями;

– тяжкою анемією;

– онкологічними захворюваннями;

– вродженими вадами розвитку плодів;

– хромосомними аномаліями плодів;

– іншими екстрагенітальними захворюваннями, що можуть впливати на рівень ангіогенних або ендотеліальних факторів.

Первинною кінцевою точкою дослідження було визначення асоціації між розвитком СФФТ та рівнем ангіогенних (VEGF, PlGF), антиангіогенних (sFlt-1, sEng) і ендотеліальних факторів (ендотелін-1 та метаболіти NO).

Вторинними кінцевими точками були:

– оцінка морфометричних характеристик плаценти;

– визначення загального об'єму судин плаценти;

– оцінка питомої ваги поверхневих артеріо-артеріальних анастомозів;

– визначення питомої ваги безсудинних ворсин;

– аналіз взаємозв'язку між лабораторними та морфологічними показниками.

Перед початком дослідження було виконано апріорний розрахунок необхідного обсягу вибірки відповідно до рекомендацій STROBE та сучасних біомедичних статистичних підходів.

Розрахунок здійснювали для порівняння середніх значень основних біомаркерів між незалежними групами за рівня статистичної значущості $\alpha = 0,05$; статистичної потужності (Power) 80 %; очікуваного великого розміру ефекту (Cohen's $d = 0,8$).

За результатами розрахунку мінімально необхідна чисельність становила не менше ніж 13 пацієнток у кожній групі порівняння.

Фактична кількість пацієнток у всіх клінічних групах відповідала мінімально необхідному розрахунковому обсягу вибірки.

З огляду на обмежену поширеність СФФТ дослідження мало характер пілотного (exploratory study). Розмір вибірки визначався кількістю пацієнток, які відповідали критеріям включення протягом періоду набору.

Дослідження виконано відповідно до принципів Declaration of Helsinki (World Medical Association, 2024), вимог ICH Good Clinical Practice (ICH-GCP) і схвалено локальною комісією з питань етики. Усі учасниці підписали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

Усіх вагітних було обстежено відповідно до наказу МОЗ України № 4137 від 09.08.2022, УЗД проводилося згідно із сучасними рекомендаціями ISUOG (2011 р.) та за наявності сертифіката FMF. Також усі пацієнтки пройшли консультації терапевта, хірурга й ендокринолога з метою виявлення супутніх соматичних захворювань.

У 13 (61,9 %) пацієнток 1-ї клінічної групи вагітність настала завдяки застосуванню екстракорпорального запліднення (ЕКЗ), у 8 (38,1 %) – спонтанно. У 2-й та 3-й клінічних групах вагітності виникли спонтанно.

У 5 (23,8 %) пацієнток 1-ї клінічної групи, 3 (18,7 %) – 2-ї клінічної групи, 1 (7,1 %) – 3-ї клінічної групи та 8 (23,5 %) – 4-ї клінічної групи в анамнезі були штучні аборти.

Також 3 (14,2 %) вагітних 1-ї клінічної групи, 9 (56,2 %) – 2-ї клінічної групи, 6 (42,9 %) – 3-ї клінічної групи та 15 (44,1 %) – 4-ї клінічної групи були повторнородящими, у них в анамнезі відзначено 1–2 пологи.

У 2 (9,5 %) жінок 1-ї клінічної групи, 4 (25,0 %) – 2-ї клінічної групи, 3 (21,4 %) – 3-ї клінічної групи та 7 (20,6 %) – 4-ї клінічної групи в анамнезі був кесарів розтин.

У 2 (9,5 %) жінок 1-ї клінічної групи, 3 (18,7 %) – 2-ї клінічної групи, 6 (42,9 %) – 3-ї клінічної групи та 7 (20,6 %) – 4-ї клінічної групи попередні вагітності супроводжувалися затримкою внутрішньоутробного розвитку плода, кровотечами або передчасними пологами. Максимальний відсоток ускладнень попередніх пологів (42,9 %) спостерігався саме в 3-й клінічній групі.

У всіх жінок було виключено наявність супутніх екстрагенітальних захворювань, що могли б спричинити порушення балансу ангіогенних, антиангіогенних і судинно-ендотеліальних факторів.

Для діагностики наявності або відсутності СФФТ у пацієнток із монохоріальною та біамніотичною двійнею використовували ультразвукові ознаки за Quintero, згідно з яким до I стадії належали олігогідрамніон / полігідрамніон, візуалізація сечового міхура донора, нормальні доплерометричні показники. Також нами були відмічені асоційовані ознаки: симптоми «загинів» («складок») амніотичної мембрани одного з плодів, гіпоплазія пуповини одного з плодів, багатократне перекручування пуповини іншого плода.

Усім вагітним, крім загальноприйнятих обстежень, регламентованих наказами МОЗ України, визначали в сироватці крові вміст плацентарного фактора росту (PIGF), судинно-ендотеліального фактора росту (VEGF), розчинного рецептора 1 VEGF (sFlt-1), розчинного ендогліну (sEng) та ендотеліну-1 із використанням комерційних тест-наборів фірм Quantikine і R&D Systems (США / Канада), Biomedica (Австрія), Demeditec (Німеччина) на напівавтоматичному мікропланшетному ІФА-аналізаторі Statfax-303plus (США).

Оксид азоту є нестабільною сполукою з коротким часом життя (період напіврозпаду становить кілька секунд) і швидко метаболізується у свої кінцеві метаболіти – нітрит (NO_2^-) та нітрат (NO_3^-). При цьому нітрити швидко конвертуються в нітрати, що ускладнює сумарне

визначення їх у сироватці крові. Визначали сумарний вміст нітрит- та нітрат-іонів завдяки зворотній хімічній конверсії (діазотуванню) нітрату в нітрит [15].

Необхідність визначення саме рівня метаболітів NO для оцінки NO-продукуючої активності ендотелію підтверджена також даними інших дослідників в експерименті [15].

Показано, що концентрація нітритів / нітратів використовувалася як непрямий показник метаболітів NO. Усі ці дані підтверджують, що для кількісного вимірювання активності NO в організмі вагітної достатньо визначення його метаболітів [15]. Однак робіт, які б вивчали рівень метаболітів NO за наявності СФФТ, немає, що підкреслює важливість нашого дослідження.

Усім породіллям після пологів проводили морфологічне дослідження плаценти. Ангіоархітектоніку плаценти та типи судинних анастомозів оцінювали після кольорової перфузії плацентарного судинного русла, використовуючи елементи методики Lopriore E. et al. (2011) [17].

Дослідження проводилися в перші 24 години після пологів, після видалення амніотичної оболонки з плодової поверхні плаценти. Пуповину кожного близнюка маркували кольоровими нитками, у кожній пуповині визначали одну велику вену та дві артерії, які були меншого діаметра, ніж вена. У ці судини було введено пупкові катетери різного кольору для артерій та вени. Спочатку для розчинення тромбів вводили 5000 ОД гепарину на 500 мл стерильного фізрозчину, підігрітого до температури 37–38 °С. Шприцами по 20 мл повільно плавно вводили цей розчин, масажуючи плаценту від центру до периферії, вимиваючи залишки крові через відкриті вени, поки не піде прозорий фізрозчин, таким чином прогріваючи плаценту для майбутнього желатинового розчину. Використовували 10 %-й розчин лабораторного желатину у фізрозчині, який підігрівали до 40 °С. До 100 мл 10 %-го розчину желатину додавали 20 мл еозину (Bio Gnost EosinY 1 % aqueons CE/IVD), до другої порції 10 %-го розчину желатину додавали 15 мл метиленового синього (Methylenum coeruleum 1 %-й водний розчин). Ці розчини використовували для контрастування судин одного близнюка та готували в першу чергу. Для другого близнюка використовували 10 %-й розчин желатину, куди на 100 мл додавали 1 мл 1 %-го водного розчину діамантового зеленого (Bio-Optica, 1.2.17, Італія). У другу порцію 10 %-го розчину желатину додавали 10 мл фуксину кислого (Bio-Optica, Італія). Цей розчин готували безпосередньо перед введенням в артерії іншого близнюка та вводили одразу після додавання барвника протягом 1 хв. Вищевказані концентрації визначали попередньо експериментальним шляхом.

Для диференційованої візуалізації артеріального та венозного русла використовували відповідно еозин і фуксин кислий для артерій та метиленовий синій і діамантовий зелений для вен. Після заповнення судинного русла проводили макроскопічне картування плацентарних анастомозів із визначенням їхнього типу та локалізації. Поверхневі артеріо-артеріальні (АА) анастомози визначали як судинні сполучення між артеріальними системами обох плодів, розташовані в межах хоріальної пластинки. Питому частку поверхневих АА плацентарних анастомозів визначали як відношення площі, яку займають зони АА-анастомозів, до загальної площі судинного русла, виражене у відсотках. Такий підхід надав можливість оцінити структурний внесок поверхневих АА-анастомозів у загальну ангіоархітектоніку плаценти та порівняти їхню частку між досліджуваними групами.

Із центральних і периферичних відділів плаценти вирізали ділянки прямокутної форми через всю товщу плаценти розміром приблизно 1 × 1 × 2–3 см залежно від товщини плаценти. Отримані шматочки (по 3 з кожної плаценти) фіксували в 10 %-му нейтральному формаліні, а після обстеження в спиртах із поступово зростаючою концентрацією заливали парафіном. Загалом із кожної плаценти було сформовано три парафінові блоки, з яких за допомогою мікротома виготовляли три зрізи завтовшки 5 мкм і фарбували гематоксиліном або езином.

Мікроморфометрію проводили з використанням окулярної сітки Автанділова, після чого визначали відповідні морфометричні параметри, які частково характеризували функціональні та компенсаторні можливості плаценти.

Для стандартизації та уникнення суб'єктивного вибору ділянок аналізу відбір полів зору здійснювали методом систематичного випадкового кроку шляхом переміщення вікна огляду «змійкою» вздовж середньої лінії зрізу.

На кожному гістологічному зрізі аналізували 15 полів зору за збільшення х200. Площа одного поля зору становила 0,22 мм^2. Загальна кількість для однієї плаценти становить 45 проаналізованих полів зору, що сумарно забезпечило площу аналізу 9,9 мм^2 на один випадок.

Розрахували загальний об'єм судин (Vc) як добуток об'ємної щільності судин (Vv) на загальний об'єм плацент (V плац.):

$$Vc = Vv : V\ плац.,$$

де Vv – частка від кількості судин (Pc), що потрапили на просвіт, до загальної кількості точок на сітці (Рзаг.):

$$Vv = \frac{Pc}{Рзаг.}.$$

Vплац. розрахували як масу плаценти, поділену на щільність (1,05 г/см^3):

$$Vплац. = \frac{m}{\rho}.$$

Для оцінки внутрішньоекспертної відтворюваності (intraobserver reproducibility) морфометричних вимірювань 15 % випадково відібраних гістологічних зрізів були повторно проаналізовані тим самим дослідником через 4 тижні після первинного підрахунку. Під час повторного аналізу дослідник не мав доступу до результатів першого етапу («сліпий» метод). Надійність вимірювань загального об'єму судин оцінювали за допомогою внутрішньокласового коефіцієнта кореляції (ICC). Значення ICC > 0,85 вважали показником відмінної відтворюваності методу. Для отриманих даних об'ємної щільності судин коефіцієнт ICC становив 0,91; 95 % довірчий інтервал (0,84–0,96), що підтверджує високу стабільність і надійність застосованого морфометричного підходу.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою ліцензійного пакета програми Statistica 6.0. Аналіз параметричних даних виконували з розрахуванням середнього арифметичного та середньоквадратичного відхилення середнього. Аналіз непараметричних отриманих даних здійснювався методами описової статистики з обчисленням медіани (Me) та інтерквартильного інтервалу (Q–Q3). Для оцінки різниць застосовували непараметричний критерій Краскела – Уолліса. Кореляції між змінними оцінювали за коефіцієнтом кореляції Пірсона. Аналіз ROC-кривих проводили в цілому та з розподілом за групами. У разі порушення однорідності дисперсії та нормального розподілення однорідних параметрів використовували тест Шапіро – Вілка та тест Велша (F). Усі попарні post-hoc порівняння для показників із міжгруповими відмінностями коректувалися методом Holm. Різницю вважали значущою за значення $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Дані про вміст VEGF, PIGF, sFlt-1, sEng, метаболітів NO та ендотеліну-1 у сироватці крові обстежених вагітних наведено в табл. 1.

З даних табл. 1 видно, що рівень PIGF у вагітних із монохоріальною двійнею майже вдвічі нижчий порівняно з одноплідною вагітністю. У вагітних з монохоріальною біамніотичною двійнею за наявності СФФТ порівняно з аналогічними вагітними без СФФТ достовірної зміни PIGF не виявлено ($p > 0,05$). Що стосується VEGF та sFlt-1, то їхній вміст у вагітних із монохоріальною біамніотичною двійнею за наявності СФФТ виявився достовірно вищим порівняно з групами контролю та порівняння ($p < 0,05$).

Встановлено, що достовірне збільшення розчинного рецептора sFlt-1 у вагітних 3-ї клінічної групи призводить до блокади VEGF, що підтверджують дані [2]. Ми не отримали достовірної різниці показника PIGF між 2-ю та 3-ю клінічними групами. Можна припустити, що цей показник не відіграє значущої ролі, на відміну від VEGF, у формуванні поверхневих АА-анастомозів, які можуть, на нашу думку, мати модифікуючий, захисний вплив на нетто-трансфузію. Проте це припущення потребує подальшого вивчення та доказовості.

Таким чином, отримані результати дають підстави припустити, що зміни судинно-ендотеліальних факторів росту можуть бути недостатніми для повноцінної адаптації поверхневих анастомозів до порушень фетоплацентарної гемодинаміки у плода-донора та плода-реципієнта. Підтвердженням може бути достовірне підвищення циркулюючої концентрації VEGF у пацієнток 3-ї групи, яке, однак, не супроводжувалося очікуваною компенсацією гемодинамічних порушень. Водночас не можна не враховувати й альтернативне пояснення, за якого особливості сформованих плацентарних анастомозів самі впливають на співвідношення VEGF/sFlt-1 та характер ангіогенної відповіді. Отже, виявлені зміни доцільно розглядати як взаємопов'язані прояви порушення регуляції ангіогенезу, а їхній причинно-наслідковий зв'язок потребує подальшого вивчення.

Щодо розчинного ендогліну (sEng), то його концентрація була достовірно вищою у вагітних із СФФТ порівняно з контрольною групою та групою порівняння. З огляду на відому роль sEng у порушенні ангіогенного балансу отримані результати дають підстави припустити його можливу участь у патогенезі СФФТ. Зокрема, підвищення рівня sEng потенційно може обмежувати ангіогенну відповідь і впливати на формування та функціонування поверхневих судинних анастомозів, які мають значення для перерозподілу кровотоку між плодами.

Водночас отримані дані не дають змоги однозначно встановити причинний зв'язок між підвищенням концентрації sEng та порушенням формування або функціонування анастомозів. Виявлена асоціація може відображати як безпосередню роль sEng у розвитку ангіогенного дисбалансу, так і вторинну відповідь на вже сформовані гемодинамічні порушення. Наші результати загалом узгоджуються з окремими даними літератури [16–19]. Водночас кількість досліджень, присвячених ролі sEng за наявності СФФТ, залишається обмеженою, що свідчить про недостатнє вивчення цього маркера й обґрунтовує необхідність подальших досліджень його значення в патогенезі синдрому.

В основній групі виявлено достовірне підвищення концентрації ендотеліну-1 на тлі зниження рівня метаболітів NO, що свідчить про зміщення вазорегуляторного балансу в бік вазоконстрикторних механізмів.

Таблиця 1

Вміст VEGF, PIGF, sFlt-1, s-Eng, метаболітів NO та ендотеліну-1

Показник	Клінічні групи				p
	1-ша	2-га	3-тя	4-та	
VEGF, пг/мл	128,7 ± 37,4	143,2 ± 31,5	270,5 ± 49,7	30,7 ± 9,2	< 0,001
PIGF, пг/мл	199,7 ± 77,2	153,5 ± 49,6	117,1 ± 29,3	236,5 ± 82,3	< 0,05
sFlt-1, пг/мл	1267 ± 499	1362 ± 387	2368 ± 408	937 ± 323	< 0,001
sEng, пг/мл	7370 ± 440	7837 ± 507	10 412 ± 327	6115 ± 510	< 0,005
Ендотелін-1, пг/мл	0,90 ± 0,08	1,1 ± 0,09	1,42 ± 0,07	0,95 ± 0,05	< 0,001
Метаболіти NO, мкМоль/л, після зворотної конверсії $NO_3^- \rightarrow NO_2^-$	31,4 ± 5,6	30,9 ± 4,9	17,6 ± 3,5	27,30 ± 4,96	< 0,005
NO_2, мкМоль/л	4,1 ± 0,5	3,7 ± 0,6	1,44 ± 0,4	3,4 ± 0,7	< 0,005

Примітка. Рівень VEGF, sFlt-1, sEng, ендотелін-1, метаболіти NO в 3-й групі були статично значуще вищими порівняно з 1-ю, 2-ю та 4-ю групами ($p < 0,05$) для всіх попарних порівнянь після корекції Holm. Для PIGF попарні post-hoc порівняння з поправкою Holm виявили статистично значущі відмінності між 3-ю та 4-ю групами (скориговане $p < 0,05$), відмінність між 3-ю та 2-ю групами була статистично незначущою ($p > 0,05$).

Оскільки ендотелін-1 є потужним вазоконстриктором, тоді як NO забезпечує вазодилатацію, виявлені зміни можуть відображати порушення ендотеліальної регуляції судинного тонусу у вагітних із СФФТ. Водночас самі по собі ці показники не дають змоги однозначно довести наявність тканинної гіпоксії, тому їх доцільно розглядати як непрямі ознаки можливих гемодинамічних і гіпоксичних порушень.

Відомо, що гіпоксія здатна активувати ангіогенну відповідь, зокрема через стимуляцію продукції VEGF [20]. У цьому контексті достовірне підвищення циркулюючої концентрації VEGF у вагітних із СФФТ може бути проявом компенсаторної ангіогенної відповіді на порушення фетоплацентарної гемодинаміки та можливу гіпоксію. Разом із тим підвищення VEGF у периферичній крові не обов'язково означає посилення ефективного ангіогенезу в плаценті, оскільки на його біологічну доступність та реалізацію ангіогенного сигналу можуть впливати інші компоненти регуляторної системи. Зокрема, у вагітних із СФФТ нами встановлено достовірне підвищення концентрації розчинного рецептора sFlt-1. Оскільки sFlt-1 зв'язує VEGF і зменшує його біологічну доступність, одночасне підвищення VEGF та sFlt-1 може свідчити про порушення ангіогенного балансу. Таким чином, можна припустити, що за умов СФФТ компенсаторна стимуляція ангіогенного сигналу не супроводжується пропорційним посиленням його біологічної реалізації. Це може бути одним із механізмів, що обмежують адаптивну перебудову плацентарного судинного русла. Однак встановлення безпосереднього причинно-наслідкового зв'язку між дисбалансом ET-1/NO, змінами VEGF/sFlt-1 та розвитком або прогресуванням СФФТ потребує подальшого дослідження.

Кореляційний аналіз за коєфіцієнтом Пірсона між показниками ангіогенного й ендотеліального гомеостазу виявив таке: VEGF позитивно корелює з sFlt-1 ($r \approx 0{,}857$), з ендотеліном ($r \approx 0{,}712$) та негативно – з метаболітами NO ($r \approx -0{,}573$); sFlt-1 позитивно корелює з ендотеліном ($r \approx 0{,}753$), негативно – з метаболітами NO ($r \approx -0{,}609$).

Ендотелін негативно корелює з метаболітами NO ($r \approx -0{,}589$). Виявлена кореляція середньої та великої сили свідчить про взаємозв'язок цих показників. На діаграмах (рис. 1, *а–г*) представлені порівняння між клінічними групами показників VEGF, sFlt-1, ендотеліну та метаболітів NO, які свідчать про суттєву різницю цих показників між групами з монохоріальною двійнею та відсутністю або наявністю СФФТ, що вказує на ймовірну патогенетичну роль цих факторів у розвитку СФФТ.

ROC-аналіз кривих показника VEGF з розподілом за групами з високою достовірністю показав, що VEGF > 205 пг/мл може бути потенційним кандидатом для подальшого дослідження його як біомаркера СФФТ (AUC = 0,9; специфічність 90 %, чутливість 79 %).

Аналіз ROC-кривих за показником ендотеліну показав значущі відмінності рівня цього показника між клінічними групами ($p < 0{,}001$). За тестом Велш він значуще відрізняється у вагітних із монохоріальної двійнею та наявність СФФТ ($F = 167{,}73$). У більшості пацієнтів цієї групи рівень ендотеліну перевищував 1,19 пг/мл (специфічність 100 %, чутливість 80 %). Ці дані свідчать про те, що рівень ендотеліну більше за 1,19 пг/мл можна вивчати для подальшого його використання як можливого біомаркера СФФТ.

Що стосується рівня метаболітів NO, то за допомогою дисперсного аналізу (ANOVA) виявлені значущі відмінності ($p < 0{,}001$) між групами ($\eta^2 = 0{,}429$). Під час апостеріорного аналізу виявлено, що в групі вагітних із монохоріальною двійнею та наявністю СФФТ наявне значуще зниження цих показників від аналогічних без СФФТ. Таким чином, зниження метаболітів NO потребує подальшого вивчення для визначення їхньої ролі як можливого біомаркера СФФТ.

Дані мікроморфометричного дослідження плацент наведено в табл. 2.

Таким чином, мікроморфометричні показники плацент досліджуваних груп демонструють, що у вагітних із монохоріальною біамніотичною двійнею за наявності СФФТ порівняно з вагітними з монохоріальною двійнею без розвитку СФФТ відзначено достовірне зниження питомої ваги поверхневих АА-анастомозів у 3,5 раза, а також зменшення загального об'єму судин. Ці дані демонструють асоціацію, але не доводять, що саме зменшення анастомозів спричиняє СФФТ.

Водночас нами виявлені прямі кореляційні зв'язки між питомою вагою поверхневих артеріальних анастомозів і VEGF ($r \approx 0{,}592$) та ендотеліном ($r \approx 0{,}533$) і негативний зв'язок ($r = -0{,}621$) між метаболітами NO у жінок 2-ї та 3-ї клінічних груп.

Питома вага безсудинних ворсин достовірно не відрізнялася в усіх клінічних групах, за винятком 3-ї клінічної групи, що може свідчити про різні морфофункціональні порушення у вагітних з СФФТ, зокрема можливий аберантний ангіогенез на ранніх стадіях ембріогенезу або, можливо, з інших причин.

Зниження питомої ваги анастомозів у вагітних 1-ї та 4-ї клінічних груп порівняно з 2-ю та 3-ю клінічними групами асоційовано зі зменшенням співвідношення балансу ендотеліну-1 та метаболітів NO на користь NO у цих групах, що може свідчити про відсутність у цих пацієнток стану, асоційованого з порушенням вазомоторного регулювання та потенційної гіпоксії.

Отримані результати свідчать, що у вагітних із монохоріальною діамніотичною двійнею, ускладненою СФФТ, спостерігаються комплексні зміни ангіогенного й ендотеліального профілю, які супроводжуються характерними морфологічними особливостями плаценти.

Наші результати узгоджуються із сучасною концепцією плацентарної дисфункції, відповідно до якої активація ангіогенних факторів є універсальною відповіддю плаценти на порушення її перфузії та локальний оксидативний стрес. Водночас ефективність компенсаторного ангіогенезу визначається не абсолютною концентрацією VEGF, а балансом між про- й антиангіогенними медіаторами. Саме тому виявлене нами підвищення циркулюючої концентрації VEGF у поєднанні зі значним збільшенням рівня sFlt-1 та sEng може свідчити про порушення ангіогенного балансу та, можливо, потенційно обмежувати реалізацію його ангіогенного ефекту. Подібні механізми добре описані у випадку прееклампсії та затримки росту плода, однак за наявності СФФТ вони досліджені значно менше.

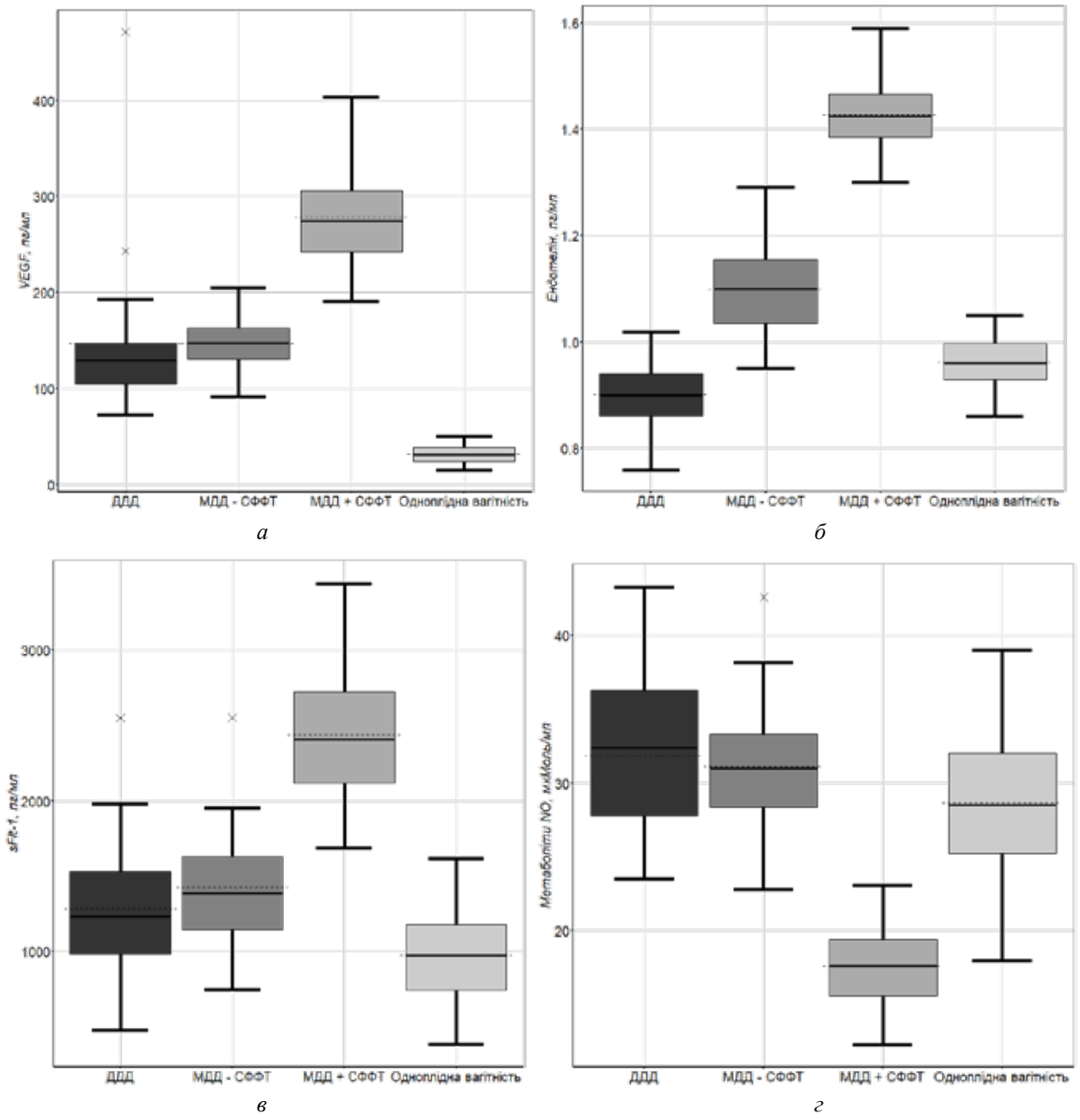


Рис. 1. Порівняння показників VEGF *(а)*, ендотеліну *(б)*, sFlt *(в)*, метаболітів NO *(г)* між клінічними групами

Таблиця 2

Морфометричні параметри плацент

Показник	Клінічні групи				p
	1-ша	2-га	3-тя	4-та	
Питома вага безсудинних ворсин (ПВБС), %	4,1 (3,7–4,9)	4,0 (3,5–4,6)	15,8 (14,2–17,5)	3,9 (3,4–4,5)	< 0,001
Загальний об'єм судин (ЗОС), см³	68,3 (66,2–70,1)	85,8 (81,7–90,2)	61,9 (61,0–62,7)	57,7 (54,8–60,5)	< 0,001
Питома вага поверхневих артеріо-артеріальних анастомозів (ПВПААА), %	0,6 (0,1–0,9)	39,4 (38,0–48,8)	10,8 (9,1–12,5)	0,3 (0,1–0,4)	< 0,001

Примітка. Для ПВБС, ЗОС, ПВПААА попарні post-hoc порівняння з поправкою Holm виявили статистично значущі відмінності між 3-ю та 2-ю, 1-ю і 4-ю групами (скориговане $p < 0,05$).

Особливий інтерес викликають отримані дані щодо дисбалансу ендотеліну-1 та метаболітів оксиду азоту. Відомо, що саме співвідношення між вазоконстрикторними та вазодилататорними механізмами бере участь у регуляції функціонального стану плацентарного ендотелію. Підвищення рівня ендотеліну-1 у поєднанні зі зниженням концентрації метаболітів NO, виявлене у пацієнток із СФФТ, може свідчити про розвиток ендотеліальної дисфункції, яка гіпотетично підтримує порушення судинного ремоделювання. Разом із тим проведене дослідження не дає змоги повною мірою зробити висновок про причинно-наслідковий характер цих змін, оскільки вони можуть бути як чинником розвитку СФФТ, так і наслідком уже сформованих гемодинамічних порушень між плодами.

Отримані результати морфометричного дослідження плацент доповнюють лабораторні дані. Значне зменшення питомої ваги поверхневих АА-анастомозів і загального об'єму судин у плацентах на тлі СФФТ свідчить про наявність суттєвих особливостей плацентарної судинної архітектоніки. Водночас ці результати не суперечать сучасним уявленням про те, що клінічний розвиток СФФТ визначається не лише кількістю анастомозів, а й їхньою функціональною організацією, напрямком кровотоку, калібром судин та співвідношенням поверхневих і глибоких судинних сполучень. Отже, виявлені морфологічні зміни, ймовірно, відображають один із компонентів складного патогенетичного процесу.

Відповідно до сучасних позицій регуляція плацентарного ангіогенезу здійснюється значно складнішою мережею сигнальних шляхів, ніж система VEGF /sFlt-1. Відомо, що активація HIF-1α за умов порушення тканинної оксигенації, сигнальний каскад Angiopoietin/Tie-2, система TGF-β, а також плацентарні екзосоми і мікроРНК беруть активну участь у регуляції проліферації, міграції та диференціюванні ендотеліальних клітин [8; 20]. Хоча зазначені механізми не були предметом нашого дослідження, саме вони можуть пояснювати складність взаємозв'язків між ендотеліальною дисфункцією та ангіогенезом за наявності СФФТ і потребують подальшого вивчення.

На підставі отриманих даних нами запропоновано об'єднати анатомічний, гемодинамічний, вазорегуляторний та ангіогенний компоненти патогенезу СФФТ в єдиний патогенетичний ланцюг (рис. 2). Водночас окремі ланки моделі можуть бути взаємопов'язаними та діяти не лише послідовно, а й паралельно. Тому запропонована схема відображає гіпотетичну модель взаємодії анатомічних, гемодинамічних, вазорегуляторних і ангіогенних механізмів за наявності СФФТ.

Запропонована нами гіпотетична концептуальна модель розглядає розвиток і прогресування СФФТ як результат взаємодії двох взаємопов'язаних патогенетичних контурів – гемодинамічного й ангіогенно-вазорегуляторного. Перший, гемодинамічний контур, формується на тлі особливостей плацентарної судинної мережі та співвідношення між різними типами анастомозів.



Рис. 2. Гіпотетична модель взаємодії анатомічних, гемодинамічних, вазорегуляторних та ангіогенних механізмів за наявності синдрому фето-фетальної трансфузії

За умов функціонально значущого нетто-трансферу крові через AV-анастомози виникає асиметрія кровотоку між фетальними циркуляціями, що супроводжується гіповолемічним навантаженням у плода-донора та гіперволемічним навантаженням у плода-реципієнта. Це створює умови для подальшого порушення фетоплацентарної гемодинаміки. Другий контур – ангіогенно-вазорегуляторний – відображає відповідь плацентарно-фетальної системи на гемодинамічні та, ймовірно, гіпоксичні зміни. Порушення тканинної оксигенації та зміни оксидативного статусу можуть супроводжуватися активацією HIF/VEGF-залежних механізмів на тлі посилення антиангіогенної активності sFlt-1 та sEng. Одночасно зміщення співвідношення між вазоконстрикторними та вазодилататорними факторами, зокрема між ендотеліном-1 та метаболітами NO, може свідчити про порушення вазорегуляторної функції ендотелію. Взаємодія цих процесів потенційно призводить до недостатньої компенсаторної адаптації та ремоделювання плацентарного судинного русла. Зі свого боку, обмеження адаптаційних можливостей судинної мережі може посилювати початковий гемодинамічний дисбаланс, формуючи замкнений патологічний контур і сприяючи прогресуванню СФФТ.

Таким чином, запропонована модель не передбачає жорсткої послідовності окремих патогенетичних подій, а відображає їхню взаємодію та можливий механізм формування позитивного зворотного зв'язку, за якого гемодинамічні порушення сприяють розвитку ангіогенно-вазорегуляторного дисбалансу, а недостатня судинна адаптація, зі свого боку, може поглиблювати порушення плацентарної гемодинаміки.

Висновки

1. У вагітних із монохоріальною біамніотичною двійнею, ускладненою СФФТ, виявлено достовірне підвищення рівнів VEGF, sFlt-1, sEng та ендотеліну-1 на тлі зниження метаболітів NO, що свідчить про порушення ангіогенного й ендотеліального гомеостазу.
2. Одночасне підвищення VEGF і sFlt-1 та відсутність достовірних відмінностей PIGF між групами з монохоріальною двійнею із СФФТ та без нього вказують на порушення балансу про- й антиангіогенних факторів за наявності СФФТ, при цьому провідне значення може належати системі VEGF/sFlt-1.
3. Підвищення ендотеліну-1 у поєднанні зі зниженням метаболітів NO та встановлені між ними кореляційні зв'язки свідчать про зміщення вазорегуляторного балансу в бік вазоконстрикції та можливу ендотеліальну дисфункцію на тлі СФФТ.
4. Морфометричне дослідження плацент за наявності СФФТ виявило зменшення питомої ваги поверхневих артеріо-артеріальних анастомозів приблизно у 3,5 раза та зниження загального об'єму судин, що супроводжувалося взаємозв'язком морфологічних показників із VEGF, ендотеліном-1 та метаболітами NO.
5. VEGF > 205 пг/мл (AUC = 0,90; чутливість 79 %; специфічність 90 %) та ендотелін-1 > 1,19 пг/мл (чутливість 80 %; специфічність 100 %) можуть розглядатися як перспективні потенційні біомаркери СФФТ. Водночас виявлені зміни слід трактувати як асоціації, а їхній причинно-наслідковий зв'язок із розвитком СФФТ потребує подальшого дослідження.

REFERENCES

1. Lewi L. Monochorionic diamniotic twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol MFM*. 2022 Mar;4(2S):100501. https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2021.100501. PMID: 34649016.
2. Kajiwara K, Ozawa K, Wada S, Samura O. Molecular Mechanisms Underlying Twin-to-Twin Transfusion Syndrome. *Cells*. 2022 Oct 17;11 (20):3268. https://doi.org/10.3390/cells11203268. PMID: 36291133; PMCID: PMC9600593.
3. Miller JL. Twin to twin transfusion syndrome. *Transl Pediatr.* 2021 May;10(5):1518–1529. https://doi.org/10.21037/tp-20-264. PMID: 34189110; PMCID: PMC8193008.
4. Anh ND, Thuong PH, Sim NT, et al. Maternal vascular endothelial growth factor receptor and interleukin levels in pregnant women with twin-twin transfusion syndrome. *Int J Med Sci.* 2021 Jul 11;18(14):3206–3213. https://doi.org/10.7150/ijms.61014. PMID: 34400890; PMCID: PMC8364448.
5. Couck I, Ponnet S, Thewissen L, et al. The Detection, Outcome, and Presentation of Twin-Twin Transfusion Syndrome in Monochorionic Diamniotic Twin Pregnancies Followed with a Protocol of Fortnightly Ultrasound Examination. *Fetal Diagn Ther*. 2021;48(5):353–360. https://doi.org/10.1159/000514575. PMID: 33823525.
6. Jacqueline G Parchem, Huihui Fan, Lovepreet K Mann, et al. Fetal metabolic adaptations to cardiovascular stress in twin-twin transfusion syndrome. *iScience*. 2023;26(8):107424. https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107424.
7. Satorres E, Martínez-Varea A, Diago-Almela V. sFlt-1/PlGF ratio as a predictor of pregnancy outcomes in twin pregnancies: a systematic review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2023;36 (2):2230514. https://doi.org/10.1080/14767058.2023.2230514.
8. Lorenz-Meyer L, Scherfeld V, Hackelöer M, Nonn O, Henrich W, Verlohren S. Prediction of preeclampsia-related outcomes with the sFlt-1 (soluble Fms-like tyrosine kinase-1)/PlGF (placental growth factor)-ratio in the routine in twin pregnancies. *Pregnancy Hypertension.* 2025;42:101393. https://doi.org/10.1016/j.preghy.2025.101393.
9. Sapantzoglou I, Rouvali A, Koutras A, et al. sFLT1, PlGF, the sFLT1/PlGF Ratio and Their Association with Pre-Eclampsia in Twin Pregnancies – A Review of the Literature. *Medicina (Kaunas).* 2023;59(7):1232. https://doi.org/10.3390/medicina59071232.
10. Zhu YD, Bian JY, Liao YP, et al. Retrospective validation of 11-13 weeks' gestation ultrasound characteristics as predictive tools for twin-twin transfusion syndrome and selective intrauterine growth restriction in monochorionic diamniotic twin pregnancies. *Ann Transl Med.* 2021 Sep;9(18):1417. https://doi.org/10.21037/atm-21-3826. PMID: 34733969; PMCID: PMC8506735.
11. Wang X, Shi H, Li L, Yuan P, Zhao Y, Wei Y. Study of the placental characteristics and time of onset of twin-to-twin transfusion syndrome. *Placenta*. 2021 Jan 1;103:10–15. https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.10.012. PMID: 33068961.
12. Moore LE. Twin-to-Twin Transfusion Syndrome: Practice Essentials, Background, Pathophysiology. *Medscape Reference*. Updated Aug 23, 2024. Available from: https://emedicine.medscape.com/article/271752-overview. Accessed Jun 18, 2026.

13. Guo X, Yi H, Li TC, Wang Y, Wang H, Chen X. Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Human Embryo Implantation: Clinical Implications. *Biomolecules*. 2021 Feb 10;11(2):253. https://doi.org/10.3390/biom11020253. PMID: 33578823; PMCID: PMC7916576.
14. Conyers S, Young BC. Twin-Twin Transfusion Syndrome in Monochorionic Diamniotic Twins. *Neoreviews*. 2023 Aug 1;24(8):e522–e525. https://doi.org/10.1542/neo.24-8-e522. PMID: 37525317.
15. Tsikas D. Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids. *Free Radical Research*. 2005;39(8):797–815. https://doi.org/10.1080/10715760500053651.
16. Kusanovic JP, Romero R, Espinoza J, et al. Twin-to-twin transfusion syndrome: an antiangiogenic state? *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2008;198(4):382.e1–382.e8. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2008.02.016.
17. Lopriore E, Slaghekke F, Middeldorp JM, et al. Accurate and Simple Evaluation of Vascular Anastomoses in Monochorionic Placenta using Colored Dye. *J Vis Exp*. 2011;(55):e3208. https://doi.org/10.3791/3208.
18. Xueju W, Luyao L, Pengbo Y, Huifeng S, Yangyu Z, Yuan W. Comparison of the ratio of placental territory discordance to birthweight discordance in placentas of monochorionic diamniotic twins. *Sci Prog*. 2021 Apr-Jun;104(2):368504211010595. https://doi.org/10.1177/00368504211010595. PMID: 33881944; PMCID: PMC10455015.
19. Chon AH, Chavira ER, Wilson ML, Ingles SA, Llanes A, Chmait RH. The impact of laser surgery on angiogenic and anti-angiogenic factors in twin-twin transfusion syndrome: a prospective study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018;31(8):1085–1091. https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1309020.
20. Bakleh MZ, Al Haj Zen A. The Distinct Role of HIF-1α and HIF-2α in Hypoxia and Angiogenesis. *Cells*. 2025;14(9):673. https://doi.org/10.3390/cells14090673.

Дата надходження статті до редакції 04.04.2026 р.
Прийнята до друку 29.06.2026 р.
Електронна адреса для листування op.lipko@knmu.edu.ua