

ISSN 2313-7347 (print)

ISSN 2500-3194 (online)

АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

2023 • том 17 • № 2

OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND REPRODUCTION

2023 Vol. 17 No 2

www.gynecology.ru

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта <http://www.gynecology.ru>. Не предназначено для использования в коммерческих целях. Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-55; эл. почта: info@grbis.ru.



Clinical significance of ADAMTS-13/vWF axis in pregnant women at different trimesters of gestation

Kristina N. Grigoreva¹, Nilufar R. Gashimova¹, Viktoria O. Bitsadze¹,
Liudmila L. Pankratyeva^{2,3}, Jamilya Kh. Khizroeva¹, Maria V. Tretyakova¹,
Valentina I. Tsibizova⁴, Natalia D. Degtyareva¹, Alyona V. Mulenkova¹,
Jean-Christophe Gris^{1,5}, Margaret V. Kvaratskheliia¹, Elvira Grandone^{1,6},
Fidan E. Yakubova¹, Dmitry V. Blinov^{1,7,8}, Alexander D. Makatsariya¹

¹Sechenov University; 2 bldg. 4, Bolshaya Pirogovskaya Str., Moscow 119991, Russia;

²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Health Ministry of Russian Federation; 1 Samora Machel Str., Moscow 117997, Russia;

³Vorokhobov City Clinical Hospital № 67, Moscow Healthcare Department; 2/44 Salyama Adilya Str., Moscow 123423, Russia;

⁴Almazov National Medical Research Centre, Health Ministry of Russian Federation; 2 Akkuratova Str., Saint Petersburg 197341, Russia;

⁵University of Montpellier; 163 Rue Auguste Broussonnet, Montpellier 34090, France;

⁶Research Center «Casa Sollievo della Sofferenza»; 1 Viale Cappuccini, San Giovanni Rotondo 71013, Italia;

⁷Institute for Preventive and Social Medicine; 4–10 Sadovaya-Triumfalnaya Str., Moscow 127006, Russia;

⁸Moscow Haass Medical – Social Institute; 5 bldg. 1–1a, 2-ya Brestskaya Str., Moscow 123056, Russia

Corresponding author: Kristina N. Grigoreva, e-mail: grigkristik96@gmail.com

Abstract

Introduction. The pandemic of a novel coronavirus infection has demonstrated the importance of assessing the ADAMTS-13/vWF axis in patients with COVID-19, because a decline in this ratio mirrors disease severity. However very few data in the global literature on crosstalk and ADAMTS-13/vWF levels in pregnant women remaining very contradictory are available. Taking into consideration an impact of the ADAMTS-13/vWF axis on prevalence of thrombosis and disorders in the hemostasis system, investigation of this issue is highly demanded.

Aim: to assess the functioning of the ADAMTS-13/vWF axis during physiological pregnancy.

Materials and Methods. A controlled non-randomized study was conducted: main group included 44 women with physiologically occurring pregnancies at I, II and III trimesters; the control group consisted of 45 healthy non-pregnant women. The plasma level of ADAMTS-13 inhibitor (ADAMTS-13:i), ADAMTS-13 antigen (ADAMTS-13:Ag), vWF antigen (vWF:Ag), and ADAMTS-13 activity (ADAMTS-13:Ac) as well as relevant ratio (ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag) were measured.

Results. It was shown that in parallel with increasing gestational age, significant changes occurred in the ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag ratio. In main group, patients at II trimester were found to have level of ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag 0.359 ± 0.121 , in III trimester – 0.253 ± 0.741 , which significantly differed ($p < 0.01$) compared to control group with non-pregnant women ($1,134 \pm 0,308$).

Conclusion. Our study provides new insights into the functioning of the ADAMTS-13/vWF axis in women with physiologically occurring pregnancy at I, II and III trimesters. Decline in ADAMTS-13:Ac was demonstrated along with increasing vWF:Ag level observed in parallel with increasing gestational age. Apparently, the progressive decrease of ADAMTS-13 concentration during pregnancy is associated with its increased consumption due to high vWF level. However, due to the small single-center patient cohort, further studies with larger-scale studies are needed.

Keywords: ADAMTS-13 metalloproteinase, pregnancy, gestation, von Willebrand factor, vWF

For citation: Grigoreva K.N., Gashimova N.R., Bitsadze V.O., Pankratyeva L.L., Khizroeva J.Kh., Tretyakova M.V., Tsibizova V.I., Degtyareva N.D., Mulenkova A.V., Gris J.-C., Kvaratskheliia M.V., Grandone E., Yakubova F.E., Blinov D.V., Makatsariya A.D. Clinical significance of ADAMTS-13/vWF axis in pregnant women at different trimesters of gestation. *Akusherstvo, Ginekologiya i Reprodukcija = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2023;17(2):xxx–xxx. <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.405>.

Клиническое значение состояния оси ADAMTS-13/vWF у беременных в различные trimestры гестации

К.Н. Григорьева¹, Н.Р. Гашимова¹, В.О. Бицадзе¹, Л.Л. Панкратьева^{2,3}, Д.Х. Хизроева¹, М.В. Третьякова¹, В.И. Цибизова⁴, Н.Д. Дегтярева¹, А.В. Муленкова¹, Ж.-К. Гри⁵, М.В. Кварацхелия¹, Э. Грандоне^{1,6}, Ф.Э. Якубова¹, Д.В. Блинов^{1,7,8}, А.Д. Макацария¹

¹ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет);
Россия, 119991 Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, д. 1;

³ГБУЗ «Городская клиническая больница № 67 имени Л.А. Ворохобова Департамента здравоохранения города Москвы»;
Россия, 123423 Москва, ул. Саляма Адила, д. 2/44;

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, 197341 Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2;

⁵Университет Монпелье; Франция, 34090 Монпелье, ул. Огюста Бруссоне, д. 163;

⁶Исследовательский центр «Casa Sollievo della Sofferenza»; Италия, 71013 Сан-Джованни-Ротондо, Viale Caraccioli, д. 1;

⁷Институт Превентивной и Социальной Медицины; Россия, 127006 Москва, ул. Садовая-Триумфальная, д. 4–10;

⁸АНО ДПО «Московский медико-социальный институт имени Ф.П. Газа»; Россия, 123056 Москва,
2-я Брестская ул., д. 5, с. 1–1а

Для контактов: Кристина Николаевна Григорьева, e-mail: grigkristik96@gmail.com

Резюме

Введение. Пандемия новой коронавирусной инфекции продемонстрировала важность оценки оси ADAMTS-13/vWF (металлопротеиназа ADAMTS-13/фактор фон Виллебранда) у пациентов с COVID-19, поскольку снижение этого соотношения отражает тяжесть заболевания. Однако данных в мировой литературе о взаимодействии и уровнях ADAMTS-13/vWF у беременных очень мало и все они весьма противоречивы. Учитывая влияние оси ADAMTS-13/vWF на частоту тромбозов, нарушений в системе гемостаза, исследование этого вопроса является крайне необходимым.

Цель: изучение функционирования оси ADAMTS-13/vWF при физиологической беременности.

Материалы и методы. Проведено контролируемое нерандомизированное исследование: в основную группу вошли 44 женщины с физиологически протекающей беременностью в I, II и III триместрах, контрольную группу составили 45 здоровых небеременных женщин. В плазме крови определяли содержание ингибитора ADAMTS-13 (ADAMTS-13:i), антигена ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ag), антигена vWF (vWF:Ag) и активность ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ac), а также их соотношение (ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag).

Результаты. С увеличением срока гестации происходят значительные изменения в соотношении ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag. У пациенток из основной группы во II триместре соотношение ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag составило $0,359 \pm 0,121$, в III триместре – $0,253 \pm 0,741$, что имело статистически значимые различия ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой небеременных женщин ($1,134 \pm 0,308$).

Заключение. Наше исследование дает новые представления о функционировании оси ADAMTS-13/vWF у женщин с физиологически протекающей беременностью в I, II и III триместрах. Продemonстрировано снижение ADAMTS-13:Ac на фоне роста уровня vWF:Ag, наблюдавшееся с увеличением срока беременности. По-видимому, прогрессирующее снижение концентрации ADAMTS-13 во время беременности связано с ее увеличенным потреблением из-за высокого содержания vWF. Однако ввиду небольшой одноцентровой выборки необходимы дальнейшие исследования с большим количеством пациентов.

Ключевые слова: металлопротеиназа ADAMTS-13, беременность, гестация, фактор фон Виллебранда, vWF

Для цитирования: Григорьева К.Н., Гашимова Н.Р., Бицадзе В.О., Панкратьева Л.Л., Хизроева Д.Х., Третьякова М.В., Цибизова В.И., Дегтярева Н.Д., Муленкова А.В., Гри Ж.-К., Кварацхелия М.В., Грандоне Э., Якубова Ф.Э., Блинов Д.В., Макацария А.Д. Клиническое значение состояния оси ADAMTS-13/vWF у беременных в различные trimestры гестации. Акушерство, Гинекология и Репродукция. 2023;17(2):xxx–xxx. <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.405>.

Highlights

What is already known about this subject?

- ▶ The COVID-19 pandemic has demonstrated that a decline in ADAMTS-13/vWF ratio is a predictor of unfavorable outcomes and points at developing endotheliopathy.
- ▶ Normally, pregnancy is characterized by development of hypercoagulation.

What are the new findings?

- ▶ Significantly altered ADAMTS-13/vWF ratio along with increasing gestational age was demonstrated, especially pronounced in the third trimester.

How might it impact on clinical practice in the foreseeable future?

- ▶ Investigating dynamic change in ADAMTS-13/vWF ratio in physiological pregnancy will allow to further examine it in diverse pathologies able to occur during pregnancy.

Основные моменты

Что уже известно об этой теме?

- ▶ Пандемия COVID-19 продемонстрировала, что снижение отношения ADAMTS-13/vWF является предиктором неблагоприятных исходов и указывает на развитие эндотелиопатии.
- ▶ В норме беременность характеризуется развитием гиперкоагулянтного состояния.

Что нового дает статья?

- ▶ Продемонстрированы значимые изменения отношения ADAMTS-13/vWF с увеличением срока гестации, особенно ярко выраженные в III триместре.

Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем?

- ▶ Изучение динамики соотношения ADAMTS-13/vWF при физиологической беременности позволит в будущем изучить эти показатели при различных патологиях, которые могут возникнуть во время беременности.

Introduction / Введение

The hemostasis system being one of essential arms in hemostasis in health and disease of pregnancy has always been of great interest. Owing to the advances in molecular biology occurred over the last decades, it was discovered that zinc-containing metalloproteinase ADAMTS-13 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, member 13) and von Willebrand factor (vWF) play an extremely important role in hemostasis [1–3].

Von Willebrand factor is a plasma glycoprotein produced by the endothelium [4] exerting multiple functions in the human body primarily resulting in platelet recruitment and binding [5]. Microscopic studies showed that in the absence of endothelial damage, vWF in a folded form functions to preventing platelet adhesion. When a blood vessel becomes damaged, vWF “spreads out” and attracts ADAMTS-13 metalloproteinase that cleaves ultra-large vWF multimers [6]. Upon a large area of endothelial damage, a massive vWF release from Weibel–Palade bodies occurs leading to the so-called “relative” vWF-protease deficiency. ADAMTS-13 deficiency results in accumulated ultra-large vWF molecules and platelet adhesion followed by platelet consumption and microvasculature thrombosis [1, 5].

Normal pregnancy is characterized by developing hypercoagulant state. In recent years, due to the COVID-19 pandemic, it has been found that endothelial damage in hyperinflammation occurs along with the ADAMTS-13/vWF system dysregulation [7] resulting in the microcirculatory disorders and leading to multiple organ failure. Preeclampsia (PE) is one of the prominent

cases of the endotheliopathy developing during pregnancy. Patients with PE were found to have substantially altered pro- and anticoagulant pathways, which result in developing the super-hypercoagulable state [8, 9].

Aim: to assess the functioning of the ADAMTS-13/vWF axis during physiological pregnancy.

Materials and Methods / Материалы и методы

Study design / Дизайн исследования

At the clinical facilities of the Perinatal Center of Vorokhobov City Clinical Hospital № 67 and “Medical Women's Center” LLC, there was conducted a controlled non-randomized study enrolling 193 patients – 148 pregnant and 45 non-pregnant women.

Inclusion and exclusion criteria / Критерии включения и исключения

Inclusion criteria for main group: age over 18 years; healthy pregnant women with a physiological pregnancy at the I, II and III trimesters; written voluntary informed consent to participate in the study

Inclusion criteria for control group: age over 18 years; no pregnancy confirmed; written voluntary informed consent to participate in the study.

Exclusion criteria: convalescent women who had acute respiratory infections (ARI) and bacterial infection during pregnancy; with PE history; PE developed during pregnancy; unsatisfactory results of the first screening; positive glucose tolerance test; confirmed positive test for antibodies against human immunodeficiency virus,

markers of viral hepatitis B and C and syphilis; history of malignant neoplasms, somatic pathology; preterm delivery; refusal to participate in the study.

Study methods / Методы исследования

Peripheral blood samples (volume: 9 ml) were collected from pregnant females (main group) at three time points: at first screening (gestational age: from 11 to 13 weeks), during oral glucose tolerance test (gestational age: from 24 weeks to 26 weeks 6 days), and at first period of labor. In healthy non-pregnant women (control group), peripheral blood samples (volume: 9 ml) were collected at a single time point. Peripheral blood sampling was performed with a dry sterile needle from the cubital vein into a plastic tube added with an anticoagulant (sodium citrate solution 3.8 %), at 9:1 ratio. Whole blood was centrifuged at 2,500 g for 20 min at 20–24 °C followed by storage at –80 °C. Plasma level of ADAMTS-13 inhibitor (ADAMTS-13:i), ADAMTS-13 antigen (ADAMTS-13:Ag), vWF antigen (vWF:Ag) and ADAMTS-13 activity (ADAMTS-13:Ac) was assessed using commercially available test kits Technoclon Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH (TECHNOZYM®, Austria) followed by calculating the ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag ratio. Normal reference values were as follows: for ADAMTS-13:i < 15 U/ml, ADAMTS-13:Ag – 0.41–1.41 U/ml, vWF:Ag – 0.5–1.5 IU/ml (50–150 %) and activity ADAMTS-13:Ac – 0.4–1.3 IU/ml. Magnitude of the analyzed parameters in pregnant women at the I, II and III trimesters was compared with that of in non-pregnant women.

Ethical aspects / Этические аспекты

The study was approved by the Local Ethics Committee at the Sechenov University, Protocol No. 03-23 dated of February 16, 2023. All participants were informed about the study nature and the inclusion criteria as well as provided a signed voluntary informed consent and received relevant comprehensive information. The study was conducted in accordance with the ethical requirements of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association

Statistical analysis / Статистический анализ

Statistical data processing retrieved from Microsoft Office Excel 2021 spreadsheets (Microsoft, USA) was performed using the Jamovi program, version 2.3.22 (The jamovi project, Australia). Statistical analysis included the calculation of descriptive statistics: mean (M), standard deviation (SD), median (Me), limit of the

95 % confidence interval (95 % CI). The Mann–Whitney U-test was used to compare inter-group parameters. Fisher's exact test was used to assess a significance for examined parameters: $p \leq 0.05$ indicated the presence of significant differences, $p > 0.05$ – no differences.

Results and Discussion / Результаты и обсуждение

Patient groups / Группы обследованных

At the initial stage, there were enrolled 148 pregnant women. However, during the study, the following subjects were excluded: at trimester I – 7 pregnant women due to ARI and 11 due to unsatisfactory results of the first screening; at trimester II – 6 pregnant women due to ARI, 1 due to acute pyelonephritis and 4 due to a positive oral glucose tolerance test; at trimester III – 10 pregnant women due to ARI, 2 due to preterm delivery, 3 due to early PE, 19 due to late PE and 41 with physiological pregnancy due to delivery occurred in other medical facilities (Fig. 1).

The main group included 44 women with physiologically occurring pregnancies at the I, II and III trimesters, the control group – 45 healthy non-pregnant women planning pregnancy.

Clinical and anamnestic characteristics / Клинико-анамнестическая характеристика

Clinical and anamnestic examination data of study participants as well as perinatal outcomes are presented in Table 1.

The examined women did not differ in age, somatic status and body mass index, among them there were no cases of perinatal mortality. History of pregnancy loss before the week 10 in the main group was in 6 out of 44 (13.64 %), in the control group – in 4 out of 45 (8.89 %). A history of pregnancy loss before week 22 was observed only in the main group in 1 out of 44 (2.27%), its cause was premature rupture of the membranes. In the current pregnancy, vaginal delivery occurred in 33 out of 44 (75.0%) patients with physiological pregnancy at trimester III; delivery by caesarean section was performed in 11 of 44 (25.0 %), the delivery period ranged from 37 weeks to 41 weeks 2 days.

Laboratory results / Результаты лабораторных исследований

Table 2 presents the results of laboratory tests of the women examined.

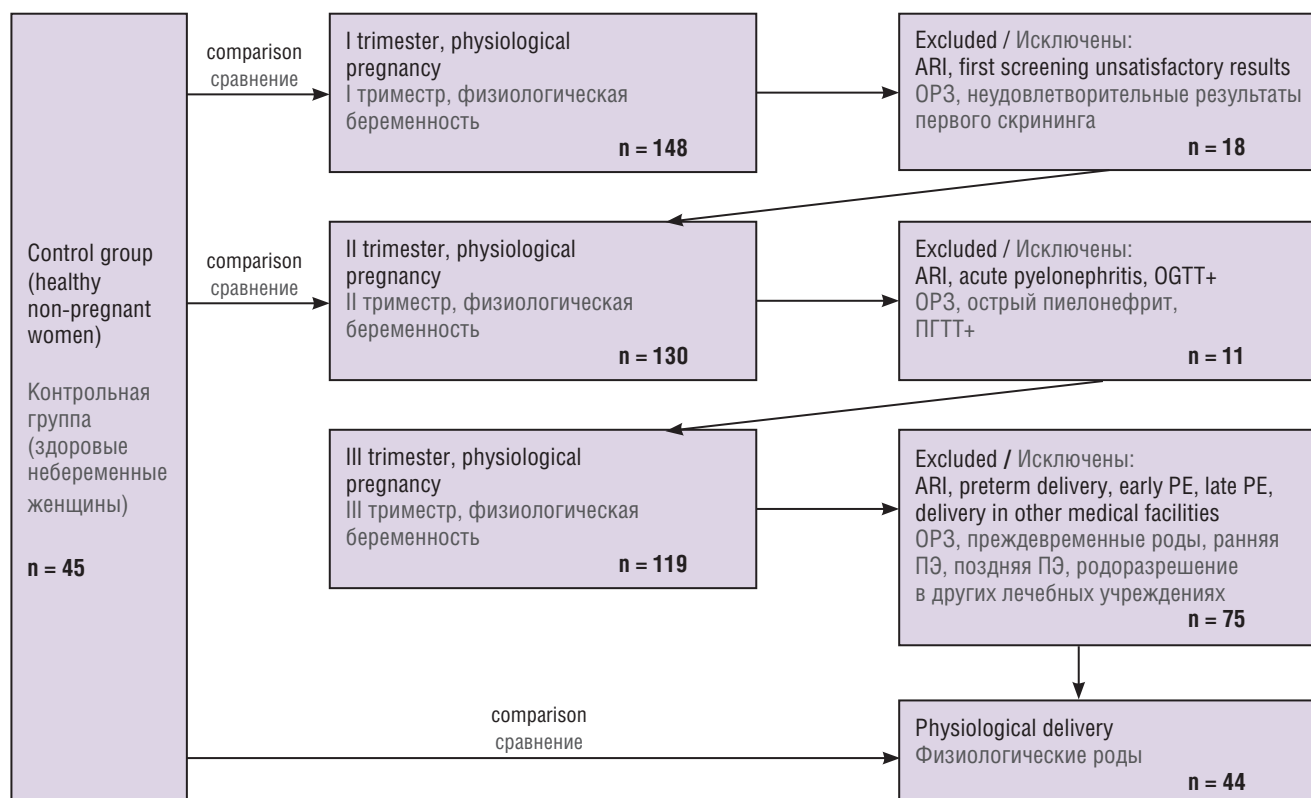


Figure 1. Patient selection flowchart.

Note: ARI – acute respiratory diseases; OGTT+ – positive oral glucose tolerance test, PE – preeclampsia

Рисунок 1. Схема отбора пациентов.

Примечание: ОРЗ – острые респираторные заболевания; ПГТТ+ – положительный пероральный глюкозотолерантный тест, ПЭ – преэклампсия.

Table 1. Clinical and anamnestic characteristics of the examined women and perinatal outcomes.

Таблица 1. Клинико-анамнестическая характеристика обследованных женщин и перинатальные исходы.

Parameter Показатель	Main group Основная группа n = 44	Control group Контрольная группа n = 45
Age, years, M / Возраст, лет, M	29,07	28,13
Min–max	22–40	18–37
Body mass index, kg/m ² , M / Индекс массы тела, кг/м ² , M	24,60	24,06
Blood group, n (%): / Группа крови, n (%):		
• blood group O / группа крови O	19 (43,19)	15 (33,33)
• blood group A / группа крови A	14 (31,81)	16 (35,56)
• blood group B / группа крови B	8 (18,19)	10 (22,22)
• blood group AB / группа крови AB	3 (6,81)	4 (8,89)
Obstetric and gynecological history, n: / Акушерско-гинекологический анамнез, n:		
• former pregnancies / беременности в анамнезе	19	16
• term delivery / своевременные роды	15	15
• preterm delivery / преждевременные роды	1	0
• loss of pregnancy before 10 weeks / потери беременности до 10 нед	6	4
• loss of pregnancy before 22 weeks / потери беременности до 22 нед	1	0
Current pregnancy, n: / Настоящая беременность, n:		
• Natural delivery / роды через естественные родовые пути	33	–
• Cesarean section / роды путем кесарева сечения	11	–
• Apgar score at 1 min < 8 points / оценка по шкале Апгар на 1-й минуте < 8 баллов	1	–
• Apgar score at 5 min < 8 points / оценка по шкале Апгар на 5-й минуте < 8 баллов	0	–

Table 2. A panel of assessed laboratory parameters (M ± SD).**Таблица 2.** Результаты изученных лабораторных показателей (M ± SD).

Parameter Параметр	Main group / Основная группа			Control group Контрольная группа n = 45	p
	I trimester I триместр n = 44	II trimester II триместр n = 44	III trimester III триместр n = 44		
ADAMTS-13:Ac, IU/ml ADAMTS-13:Ac, ME/мл	0,846 ± 0,094	0,526 ± 0,112	0,446 ± 0,088	0,871 ± 0,109	0,534* < 0,01 ** < 0,01 ***
ADAMTS-13:Ag, U/ml ADAMTS-13:Ag, ЕД/мл	0,991 ± 0,198	0,875 ± 0,099	0,773 ± 0,139	0,961 ± 0,212	0,270* 0,072** < 0,01 ***
ADAMTS-13:i, U/ml ADAMTS-13:i, ЕД/мл	1,268 ± 0,697	1,417 ± 0,733	2,413 ± 1,659	1,486 ± 0,799	0,478* 0,906** 0,025 ***
vWF:Ag, IU/ml vWF:Ag, ME/мл	0,945 ± 0,191	1,516 ± 0,122	1,761 ± 0,281	0,885 ± 0,222	0,110* < 0,01 ** < 0,01 ***
ADAMTS-13:Ac/vWF	0,924 ± 0,323	0,359 ± 0,121	0,253 ± 0,741	1,134 ± 0,308	0,348* < 0,01 ** < 0,01 ***

Note: *significant differences between main group (I trimester) and control group; **significant differences between main group (II trimester) and control group, ***significant differences between main group (III trimester) and control group; ADAMTS-13:Ac – ADAMTS-13 activity; ADAMTS-13:Ag – ADAMTS-13 antigen; ADAMTS-13:i – ADAMTS-13 inhibitor; vWF:Ag – von Willebrand factor antigen; significant differences are highlighted in bold.

Примечание: * значимость различий между основной группой (I триместр) и контрольной группой; ** значимость различий между основной группой (II триместр) и контрольной группой, *** значимость различий между основной группой (III триместр) и контрольной группой; ADAMTS-13:Ac – активность ADAMTS-13; ADAMTS-13:Ag – антиген ADAMTS-13; ADAMTS-13:i – ингибитор ADAMTS-13; vWF:Ag – антиген фактора фон Виллебранда; выделены значимые различия.

The examined pregnant women showed statistical differences in ADAMTS-13:Ac magnitude at trimesters II and III compared with control group ($p < 0.01$) indicating that, normally, along with higher gestation period, ADAMTS-13 activity gradually declines. At the same time, at trimester I, it almost matched the level in non-pregnant women (**Fig. 2**).

While assessing ADAMTS-13:Ag (**Fig. 3**), significant differences were observed solely between main group at trimester III and the control group ($p < 0.01$).

ADAMTS-13:i values in main group were as follows: at trimester I – 1.268 ± 0.697 U/ml, trimester II – 1.417 ± 0.733 U/ml, and trimester III – 2.413 ± 1.659 U/ml. ADAMTS-13:i values in main group at trimester III vs. control group (1.486 ± 0.799 U/ml) differed significantly ($p = 0.025$), whereas ADAMTS-13:i magnitude was within the reference range (**Fig. 4**).

Significant differences in vWF:Ag level were noted between pregnant women in main group at trimesters II and III ($p < 0.01$), but not at trimester I vs. control group (**Fig. 5**).

As shown by many studies, vWF tends to increase in parallel with gestational age [10, 11]. Other studies showing that vWF levels markedly increase in patients

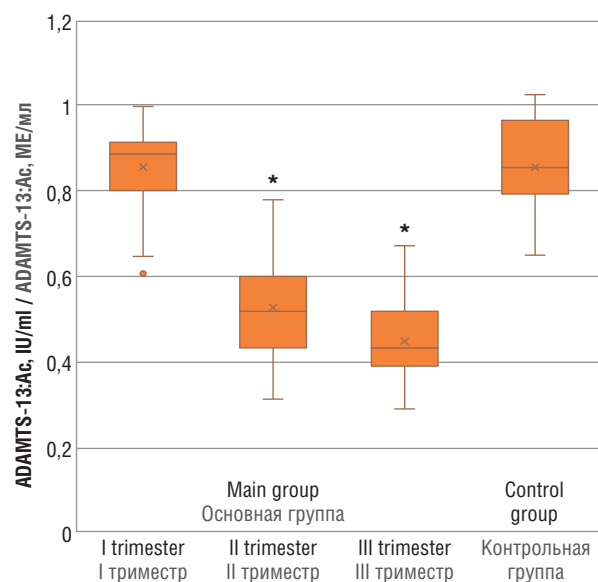


Figure 2. ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ac) activity in women with physiological pregnancy at I, II and III trimesters (main group) and in healthy non-pregnant women (control group).

Note: * $p < 0.01$ – significant differences compared to control group.

Рисунок 2. Уровень активности ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ac) у женщин с физиологически протекающей беременностью в I, II и III триместрах (основная группа) и у здоровых небеременных женщин (контрольная группа).

Примечание: * $p < 0,01$ – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой.

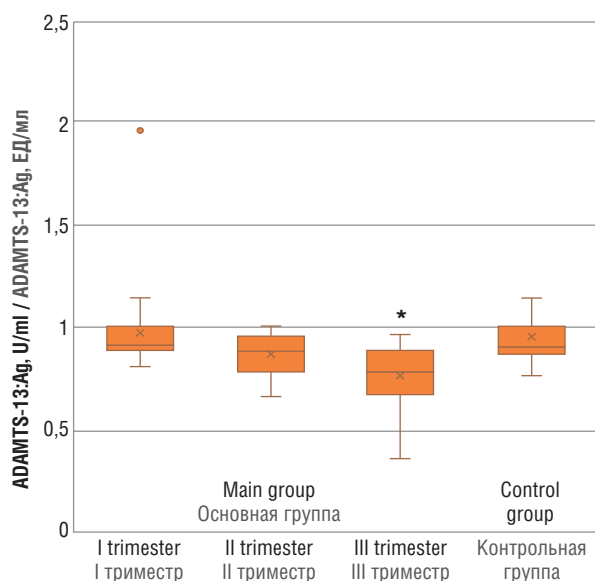


Figure 3. ADAMTS-13 antigen (ADAMTS-13:Ag) level in women with physiological pregnancy at I, II and III trimesters (main group) and healthy non-pregnant women (control group).

Note: * $p < 0.01$ – significant differences compared to control group.

Рисунок 3. Уровень антигена ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ag) у женщин с физиологически протекающей беременностью в I, II и III триместрах (основная группа) и у здоровых небеременных женщин (контрольная группа).

Примечание: * $p < 0,01$ – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой.

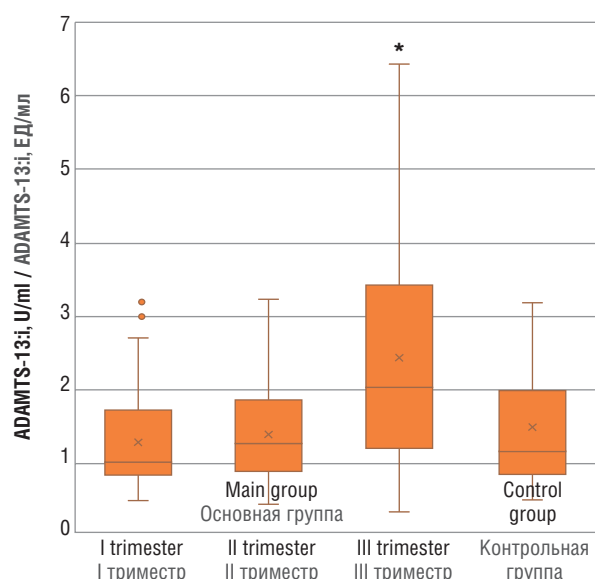


Figure 4. ADAMTS-13 inhibitor (ADAMTS-13:i) level in women with physiological pregnancy at I, II and III trimesters (main group) and in healthy non-pregnant women (control group).

Note: * $p < 0.05$ – significant differences compared to control group.

Рисунок 4. Уровень ингибитора ADAMTS-13 (ADAMTS-13:i) у женщин с физиологически протекающей беременностью в I, II и III триместрах (основная группа) и у здоровых небеременных женщин (контрольная группа).

Примечание: * $p < 0,05$ – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой.

with PE compared with physiological pregnancy at trimester III [12, 13]. However, some researchers reject such data and demonstrate no differences between these groups of patients [14]. Regarding ADAMTS-13, it is much more complicated; no global consensus about altered ADAMTS-13 activity during pregnancy was reached. Some studies demonstrate that its decline begins from trimester II of physiological pregnancy [15, 16]; others state that it remains unaltered compared with that in physiological pregnancy and non-pregnant women [17]. Our study clearly demonstrates that along with increasing gestation age, ADAMTS-13 activity decreases, whereas vWF level steadily elevates. Most likely, it is due to the massive vWF release resulting in its consumption.

Assessing ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag axis revealed significant differences ($p < 0.01$) between main group at trimesters II and III vs. control group (Fig. 6).

A decline in the ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag ratio in COVID-19 demonstrated by numerous studies evidence about development of progressive endotheliopathy and several times precipitates a risk of thrombosis including thrombotic microangiopathy [18–20].

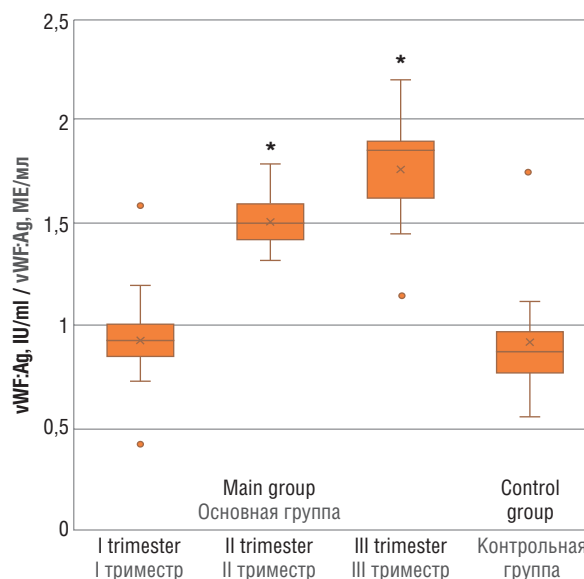


Figure 5. von Willebrand factor antigen (vWF:Ag) level in women with physiological pregnancy at I, II and III trimesters (main group) and in healthy non-pregnant women (control group).

Note: * $p < 0.01$ – significant differences compared to control group.

Рисунок 5. Уровень антигена фактора фон Виллебранда (vWF:Ag) у женщин с физиологически протекающей беременностью в I, II и III триместрах (основная группа) и у здоровых небеременных женщин (контрольная группа).

Примечание: * $p < 0,01$ – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой.

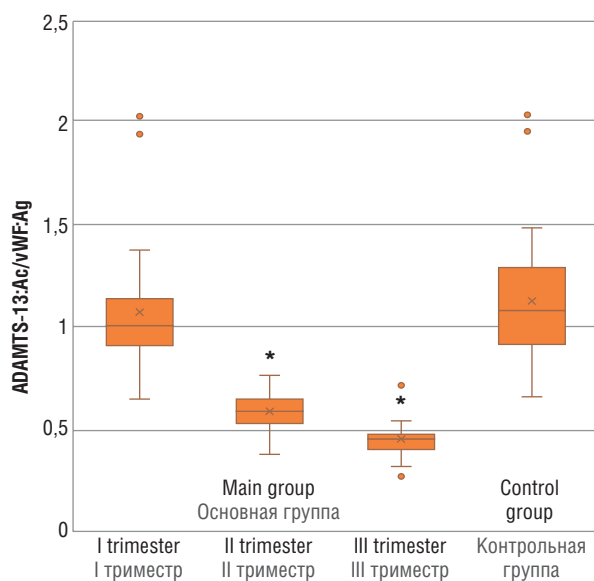


Figure 6. ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag ratio in women with physiological pregnancy at I, II and III trimesters (main group) and in healthy non-pregnant women (control group).

Note: * $p < 0.01$ – significant differences compared to control group.

Рисунок 6. Отношение ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag у женщин с физиологически протекающей беременностью в I, II и III триместрах (основная группа) и у здоровых небеременных женщин (контрольная группа).

Примечание: * $p < 0,01$ – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой.

Conclusion / Заключение

Our study provides a novel insight into ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag axis in women with normal pregnancies at trimesters I, II, III. The COVID-19 pandemic uncovered that decline in the ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag axis was one of the most important severity predictors that also resulted in elevated risk of thrombotic complications, being the main marker of endotheliopathy. Moreover, it was also elucidated that higher gestation age is paralleled with lowered ADAMTS-13:Ac level along with rise in vWF:Ag that might evidence about developing endotheliopathy. However, due to the small single-center sample, further studies with a larger patient cohorts are required.

ARTICLE INFORMATION	ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ
Received: 22.03.2023. Revision received: 23.04.2023.	Поступила: 22.03.2023. В доработанном виде: 23.04.2023.
Accepted: 25.04.2023. Published: 30.04.2023.	Принята к печати: 25.04.2023. Опубликовано: 30.04.2023.
Author's contribution	Вклад авторов
All authors participated equally in the collection, analysis and interpretation of the data.	Все авторы принимали равное участие в сборе, анализе и интерпретации данных.
All authors have read and approved the final version of the manuscript.	Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи.
Conflict of interests	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Funding	Финансирование
The authors declare no funding.	Авторы заявляют об отсутствии финансовой поддержки.
Restrictions	Ограничения
Larger-scale patient cohort studies are required.	Необходимы дальнейшие исследования на более крупных выборках.
Patient consent	Согласие пациентов
Obtained.	Получено.
Ethics approval	Одобрение этического комитета
The study was approved by the Local Ethics Committee of Sechenov University, Protocol No. 03-23 dated of 16.02.2023.	Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол 03-23 от 16.02.2023.
Clinical Trials Disclosure Policy	Политика раскрытия данных
The statistical analysis plan, analysis principles and data on individual participants that underlie the results presented in this article, after de-identification (text, tables) will be available at the request of researchers who will provide a methodologically sound proposal for a meta-analysis of individual participants' data 3 months later 5 years after the publication of the article. Proposals should be sent to the mailbox grigkristik96@gmail.com. In order to gain access, data requesters will need to sign a data access agreement.	План статистического анализа, принципы анализа и данные об отдельных участниках, лежащие в основе результатов, представленных в этой статье, после деидентификации (текст, таблицы) будут доступны по запросу исследователей, которые предоставят методологически обоснованное предложение для метаанализа данных индивидуальных участников спустя 3 мес и до 5 лет после публикации статьи. Предложения должны быть направлены на почтовый ящик grigkristik96@gmail.com. Чтобы получить доступ, лица, запрашивающие данные, должны будут подписать соглашение о доступе к данным.
Provenance and peer review	Происхождение статьи и рецензирование
Not commissioned; externally peer reviewed.	Журнал не заказывал статью; внешнее рецензирование.

References / Литература:

- Moake J.L., Rudy C.K., Troll J.H. et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med.* 1982;(23)307:1432–5. <https://doi.org/10.1056/NEJM19821203072306>.
- Tsai H.M. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood.* 1996;87(10):4235–44.
- Furlan M., Robles R., Lammle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood.* 1996;87(10):4223–34.
- Zhou Y.-F., Eng E.T., Zhu J. et al. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor. *Blood.* 2012;120(2):449–58. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-01-405134>.
- Lenting P.J., Christophe O.D., Denis C.V. von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends. *Blood.* 2015;125(13):2019–28. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-06-528406>.
- De Ceunynck K., De Meyer S.F., Vanhoorelbeke K. Unwinding the von Willebrand factor strings puzzle. *Blood.* 2013;121(2):270–7. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-07-442285>.
- Grandone E., Vimercati A., Sorrentino F. et al. Obstetric outcomes in pregnant COVID-19 women: the imbalance of von Willebrand factor and ADAMTS13 axis. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2022;22(1):142. <https://doi.org/10.1186/s12884-022-04405-8>.
- English F.A., Kenny L.C., McCarthy F.P. Risk factors and effective management of preeclampsia. *Integr Blood Press Control.* 2015;8:7–12. <https://doi.org/10.2147/IBPC.S50641>.
- Gris J.-C., Bouvier S., Cochery-Nouvellon E. et al. The role of haemostasis in placenta-mediated complications. *Thromb Res.* 2019;181 Suppl 1:S10–S14. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(19\)30359-7](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(19)30359-7).
- Drury-Stewart D., Lannert K., Chung D. et al. Complex changes in von Willebrand factor-associated parameters are acquired during uncomplicated pregnancy. *PLoS One.* 2014;9(11):e112935. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112935>.
- Chen Y., Huang P., Han C. et al. Association of placenta-derived extracellular vesicles with pre-eclampsia and associated hypercoagulability: A clinical observational study. *BJOG.* 2020;128(6):1037–46. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16552>.
- Gadisseur A., Berneman Z., Schroyens W., Michiels J.J. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease type 1/2E (2A subtype IIE), type 1
- Vicenza and mild type 1 caused by mutations in the D3, D4, B1-B3 and C1-C2 domains of the von Willebrand factor gene. Role of von Willebrand factor multimers and the von Willebrand factor propeptide/antigen ratio. *Acta Haematol.* 2009;121(2–3):128–38. <https://doi.org/10.1159/000214853>.
- Hulstein J., Heimel P., Franx A. et al. Acute activation of the endothelium results in increased levels of active von Willebrand factor in hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets (HELLP) syndrome. *J Thromb Haemost.* 2006;4(12):2569–75. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2006.02205.x>.
- Stepanian A., Cohen-Moatti M., Sanglier T. et al. Von Willebrand factor and ADAMTS13: a candidate couple for preeclampsia pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(7):1703–9. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.223610>.
- Ramadan M., Badr D., Hubeish M. et al. HELLP syndrome, thrombotic thrombocytopenic purpura or both: appraising the complex association and proposing a stepwise practical plan for differential diagnosis. *J Hematol.* 2018;7(1):32–7. <https://doi.org/10.14740/jh347w>.
- Sánchez-Luceros A., Fariás C., Amaral M. et al. von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) activity in normal non-pregnant women, pregnant and post-delivery women. *Thromb Haemost.* 2004;92(6):1320–6. <https://doi.org/10.1160/TH03-11-0683>.
- Molvarec A., Rigó J., Böze T. et al. Increased plasma von Willebrand factor antigen levels but normal von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) activity in preeclampsia. *Thromb Haemost.* 2009;101(2):305–11.
- Joly B.S., Darmon M., Dekimpe C. et al. Imbalance of von Willebrand factor and ADAMTS13 axis is rather a biomarker of strong inflammation and endothelial damage than a cause of thrombotic process in critically ill COVID-19 patients. *J Thromb Haemost.* 2021;19(9):2193–8. <https://doi.org/10.1111/jth.15445>.
- Favaloro E.J., Henry B.M., Lippi G. Increased VWF and decreased ADAMTS-13 in COVID-19: creating a milieu for (micro)thrombosis. *Semin Thromb Hemost.* 2021;47(4):400–18. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1727282>.
- Doelaar A., Bachmann M., Hölzer B. et al. COVID-19 is associated with relative ADAMTS13 deficiency and VWF multimer formation resembling TTP (Preprint). *medRxiv.* August 25, 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.08.25.202020.0>.

About the authors:

Kristina N. Grigoreva – MD, Assistant, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. E-mail: grigkristik96@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7756-8935>.

Nilufar R. Gashimova – MD, Postgraduate Student, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0764-4477>.

Victoria O. Bitsadze – MD, Dr Sci Med, Professor of RAS, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8404-1042>. Scopus Author ID: 6506003478. Researcher ID: F-8409-2017.

Liudmila L. Pankratyeva – MD, Dr Sci Med, Associate Professor, Professor, Department of Pediatrics and Health Organization, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia; Neonatologist, Hematologist, Head of the Clinical Research Center, Vorokhobov City Clinical Hospital № 67, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1339-4155>.

Jamiliya Kh. Khizroeva – MD, Dr Sci Med, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0725-9686>. Scopus Author ID: 57194547147. Researcher ID: F-8384-2017.

Maria V. Tretyakova – MD, PhD, Obstetrician-Gynecologist, Assistant, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3628-0804>.

Valentina I. Tsbizova – MD, PhD, Obstetrician-Gynecologist, Research Laboratory of Operative Gynecology, Institute of Perinatology and Pediatrics; Physician, Department of Functional and Ultrasound Diagnostics, Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5888-0774>.

Natalia D. Degtyareva – Student, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8100-0189>.

Alyona V. Mulenkova – Student, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2917-9318>.

Jean-Christophe Gris – MD, Dr Sci Med, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia; Professor of Haematology, Head of the Laboratory of Haematology, Faculty of Biological and Pharmaceutical Sciences, Montpellier University and University Hospital of Nîmes, France; Foreign Member of RAS, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9899-9910>. Scopus Author ID: 7005114260. Researcher ID: AAA-2923-2019.

Margaret V. Kvaratskheliia – MD, Medical Resident, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5249-707X>.

Elvira Grandone – MD, Dr Sci Med, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia; Head of the Department of Thrombosis and Hemostasis, Research Center «Casa Solievo della Sofferenza», San Giovanni Rotondo, Italia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8980-9783>. Scopus Author ID: 7006391091. Researcher ID: M-1127-2019.

Fidan E. Yakubova – MD, Clinical Resident, Department of Obstetrics and Gynecology, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8882-1588>.

Dmitry V. Blinov – MD, PhD, MBA, Assistant, Department of Sports Medicine and Medical Rehabilitation, Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, Sechenov University, Moscow, Russia; Head of Medical and Scientific Affairs, Institute for Preventive and Social Medicine, Moscow, Russia; Associate Professor, Department of Sports, Physical and Rehabilitation Medicine, Moscow Haass Medical – Social Institute, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3367-9844>. Scopus Author ID: 6701744871. Researcher ID: E-8906-2017. RSCI: 9779-8290.

Alexander D. Makatsariya – MD, Dr Sci Med, Academician of RAS, Professor, Head of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia; Vice-President of the Russian Society of Obstetrician-Gynecologists (RSOG); Honorary Doctor of the Russian Federation; Emeritus Professor of the University of Vienna. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7415-4633>

Сведения об авторах:

Григорьева Кристина Николаевна – ассистент кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. E-mail: grigkristik96@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7756-8935>.

Гашимова Нилуфар Рамиль кызы – аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0764-4477>.

Бицадзе Виктория Омаровна – д.м.н., профессор РАН, профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8404-1042>. Scopus Author ID: 6506003478. Researcher ID: F-8409-2017.

Панкратьева Людмила Леонидовна – д.м.н., доцент, профессор кафедры педиатрии и организации здравоохранения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия; врач-неонатолог, врач-гематолог, руководитель научно-клинического центра ГБУЗ «Городская клиническая больница № 67 имени Л.А. Ворохобова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1339-4155>. Scopus Author ID: 7006391091. Author ID: 697284.

Хизроева Джамила Хизриевна – д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0725-9686>. Scopus Author ID: 57194547147. Researcher ID: F-8384-2017.

Третьякова Мария Владимировна – к.м.н., врач акушер-гинеколог, ассистент кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3628-0804>.

Цибизова Валентина Ивановна – к.м.н., врач акушер-гинеколог НИЛ оперативной гинекологии Института перинатологии и педиатрии, врач отделения функциональной ультразвуковой диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5888-0774>.

Дегтярева Наталья Дмитриевна – студент Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8100-0189>.

Муленкова Алёна Валерьевна – студент Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2917-9318>.

Гри Жан-Кристоф – д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия; профессор гематологии, Университет Монпелье, Монпелье, Франция; иностранный член РАН, Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9899-9910>. Researcher ID: AAA-2923-2019.

Кварацхелия Маргарита Варламовна – клинический ординатор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5249-707X>.

Грандоне Эльвира – д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия; руководитель отделения тромбозов и гемостаза исследовательского центра «Casa Solievo della Sofferenza», Сан-Джованни-Ротондо, Италия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8980-9783>. Scopus Author ID: 7006391091. Researcher ID: M-1127-2019.

Якубова Фидан Эльчин кызы – клинический ординатор кафедры акушерства и гинекологии Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8882-1588>.

Блинов Дмитрий Владиславович – к.м.н., ассистент кафедры спортивной медицины и медицинской реабилитации Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия; руководитель по медицинским и научным вопросам, Институт Превентивной и Социальной Медицины, Москва, Россия; доцент кафедры спортивной, физической и реабилитационной медицины АНО ДПО «Московский медико-социальный институт имени Ф.П. Гааза», Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3367-9844>. Scopus Author ID: 6701744871. Researcher ID: E-8906-2017. RSCI: 9779-8290.

Макацария Александр Давидович – д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия; вице-президент Российского общества акушеров-гинекологов (РОАГ); Заслуженный врач Российской Федерации; Почетный профессор Венского Университета. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7415-4633>. Scopus Author ID: 57222220144. Researcher ID: M-5660-2016.