DOI 10.31718/2077-1096.20.3.14
УДК 618.345-018:618.3-06.616.12-008.331.1

Ващенко В.Л., Ліхачов В.К., Акімов О.Є., Тарановська О.О.

ФАКТОРИ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ДЕЦИДУАЛЬНИХ МАКРОФАГАЛЬНИХ СУБПОПУЛЯЦІЙ M_1 ТА M_2 У ВАГІТНИХ З ПРЕЕКЛАМПСІЄЮ, ПОРУШЕННЯ ЇХ СПІВВІДНОШЕННЯ ТА ПОШУКИ ШЛЯХІВ КОРЕКЦІЇ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава,

Оскільки, згідно даних літератури, невідповідна поляризація децидуальних макрофагів асоціюється з аномальними вагітностями, такими як спонтанний аборт, передчасні пологи, прееклампсія, затримка розвитку плоду та ін., виникла нагальна потреба дослідити реальне співвідношення цих субпопуляцій децидуальних макрофагів та факторів їх індукції у жінок з прееклампсією. Мета дослідження. Виявити особливості диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів M_1 та M_2 у вагітних з прееклампсією та вплив на цей процес факторів їх індукції. Матеріали та методи дослідження. Були вивчені концентрації про- та протизапальних цитокінів (TNF-α, INF-γ, IL-10) і активність iNOS та аргінази в цервікальному слизу у вагітних з прееклампсією в порівнянні з відповідними показниками у здорових вагітних з подальшим співставленням цих показників з кількістю децидуальних макрофагів M_1 та M_2 в плацентах обстежених жінок. Визначення концентрації цитокінів здійснювали за допомогою імуноферментного аналізу. Активність NO-синтази визначали за різницею концентрації нітритів до та після інкубації цервікального слизу. Загальна аргіназна активність досліджувалась шляхом визначення різниці концентрації L-орнітину до та після інкубації у фосфатному буферному розчині, що містить L-аргінін. Імуногістохімічне дослідження субпопуляцій макрофагів M_1 та M_2 в плацентарній тканині проводилось у патоморфологічній лабораторії «CSD Health Care» (м.Київ). Всього були обстежені 62 вагітні: контрольна група - КГ (здорові вагітні) (30 осіб) з відсутністю факторів ризику виникнення прееклампсії і непорушеним кровоплином у спіральних артеріях матки в області плацентарної ділянки у терміні 18-20^{+6} тижнів вагітності. Основну групу (ОГ) (32 вагітні) склали жінки групи підвищеного ризику по виникненню прееклампсії, з порушеним кровоплином у спіральних артеріях матки в області плацентарної ділянки у терміні 18-20^{+6} тижнів, у 14 з яких в подальшому маніфестувала прееклампсія. Результати дослідження. У вагітних з прееклампсією порушується баланс про- та протизапальних цитокінів на користь TNF-α та INF-γ при зменшенні вмісту IL-10, що спричиняє дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, із збільшенням активності iNOS. Активність же аргініну суттєво знижується. В плацентах жінок із прееклампсією вміст децидуальних макрофагів фенотипу M_1 в 1,7 разів перевищує їх кількість у здорових жінок, тоді як вміст макрофагів фенотипу M_2, навпаки, зменшується в 1,5 рази. Показано, що домінування децидуальних макрофагів субпопуляції M_1 у жінок з прееклампсією відбувається за рахунок стимулюючого впливу INF-γ та активації індуцибельної NO-синтази. Таке порушення балансу децидуальних макрофагів на користь субпопуляції M_1, вірогідно, і спричиняє прогресування ендотеліальної дисфункції, маніфестацію прееклампсії та порушення функції плаценти в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності.

Ключові сдова: прееклампсія, цитокіни, індуцибельна NO-синтаза, аргіназа, децидуальні макрофаги.

Робота є фрагментом ініціативної НДР кафедри акушерства та гінекології №2 УМСА «Роль хронічного інфікування матки та нижніх відділів статевих шляхів у формуванні акушерської та гінекологічної патології», номер державної реєстрації 0117U005276.

Вступ

Значну роль в забезпеченні імунологічного захисту організму відводять макрофагам та моноцитам, які складають близько 10-15% загальної кількості клітин кожного людського організму [1,20].

Розрізняють 2 фенотипи активованих макрофагів: M_1 (прозапальний фенотип) і M_2 (імуномодулюючий і тканинний ремоделюючий фенотип).

M_1-фенотип макрофагів потенціює розвиток незрілих ефекторних Т-лімфоцитів (Th0) в активні Т-хелпери 1 типу (Th1), які починають виділення прозапальних цитокінів, в тому числі INF-γ. Ці цитокіни, в свою чергу, зв'язуються з відповідними рецепторами на поверхні макрофага M_1 і викликають його подальшу активацію. Активовані макрофаги M_1 починають виробляти велику кількість активованих форм кисню (АФК) і оксиду азоту (NO), що спричиняє цитотоксичну активність активованих макрофагів M_1. Підвищення продукції NO відбувається за рахунок індуцибельної NO-синтази (iNOS) [1,2,5,10,11,16,19].

M_2-макрофаги – клітини інтегрованої Th2 відповіді, що сприяє зменшенню продукції TNF-α та збільшенню вироблення протизапального цитокіну IL-10. Це змінює внутрішньоклітинний сигнал в бік подальшої поляризації протизапального фенотипу M_2, виробляється менше NO, оскільки клітини M_2 експресують підвищену кількість аргінази, яка конкурує з iNOS за L-аргінін. Важливим є те, що M_2-клітини сприяють ремоделюванню та репарації тканин, ушкоджених внаслідок дії макрофагів M_1 [1,5,8,9,10,16,17,19].

Вагітність розглядається як динамічний і високорегульований імунологічний процес. Для успішного перебігу вагітності необхідно, щоб баланс субпопуляцій макрофагів M_1 та M_2 залиша-

вся належним чином збалансованим протягом всієї гестації [1,2,12,13,14,16,17,20]: у здорових жінок у «вікні» періоду імплантації та в I триместрі вагітності макрофаги індукуються до субпопуляції М; після успішного завершення інвазії трофобласта макрофаги переключаються на змішаний профіль M_1/M_2, коли маткові судини піддаються другій хвилі трофобластичної модифікації спіральних артерій для встановлення сталого кровоплину в плаценті; після досягнення адекватного плацентарно-плодового кровотоку, в II триместрі і ранній фазі третього триместру вагітності поляризація макрофагів зміщується в бік M_2, які перешкоджають відторгненню плода і забезпечують нормальний розвиток плода до самих пологів [4,5,6,7,12,14,16].

Невідповідна макрофагальна поляризація асоціюється з аномальними вагітностями, такими як спонтанний аборт, передчасні пологи, прееклампсія, затримка розвитку плоду та ін. [1,3,20].

Враховуючи той факт, що INF-γ та iNOS приймають участь в диференціації децидуальних макрофагів із стимуляцією субпопуляції M_1, а IL-10 та аргінін сприяють виробленню субпопуляції M_2, виникла нагальна потреба дослідити реальне співвідношення цих субпопуляцій децидуальних макрофагів та факторів їх індукції у жінок з прееклампсією.

Мета дослідження

Виявити особливості диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів М1 та М2 у вагітних з прееклампсією та вплив на цей процес факторів їх індукції.

Матеріали та методи дослідження

Нами були вивчені концентрації про- та протизапальних цитокінів (TNF-α, INF-γ, IL-10) і активність iNOS та аргінази в цервікальному слизу у вагітних з прееклампсією в порівнянні з відповідними показниками у здорових вагітних з подальшим співставленням цих показників з кількістю децидуальних макрофагів M_1 та M_2 в плацентах обстежених жінок.

Забір цервікального слизу проводили за допомогою стерильної щіточки під час огляду шийки матки у дзеркалах, розчиняли його у буферному розчині та зберігали в замороженому вигляді при температурі - 40˚С до моменту дослідження.

Визначення концентрації цитокінів здійснювали за допомогою імуноферментного аналізу з використанням відповідних стандартних комерційних наборів реактивів фірми «Вектор БЕСТ» згідно інструкцій фірми виробника.

Активність NO-синтази визначали за різницею концентрації нітритів до та після інкубації цервікального слизу. Концентрацію нітритів встановлювали шляхом визначення діазосполук, утворених внаслідок реакції з сульфаніловою кислотою, після чого проводили реакцію з α-нафтиламіном (реактив Грісса-Ілосвая). Активність індуцибельної форми NO-синтази визначали як різницю між загальною активністю NO-синтази та активністю її конститутивних форм [9].

Визначення загальної аргіназної активності в цервікальному слизу базується на визначенні різниці концентрації L-орнітину до та після інкубації у фосфатному буферному розчині, що містить L-аргінін. Концентрацію L-орнітину визначали за кольором продукту, утвореного внаслідок реакції із реактивом Chinard у модифікації Храмова [9].

Активність аргінази визначали за формулою:

$ARG=1000\times(C_2-C_1)/(T\times N)$, де

ARG – загальна активність аргінази, Т – час інкубації (20 годин = 1200 хв.), N – концентрація білка в г/л, розрахована біуретовим методом, C_1 - концентрацію L-орнітину в гомогенаті, C_2 – концентрація стандартної кількості L-орнітину в контрольній пробі. Одиниці виміру – мкмоль/хв. ×г білка; 1000 – перерахунок на 1 л гомогенату.

Імуногістохімічне дослідження субпопуляцій макрофагів M_1 та M_2 проводили в плацентарній тканині, отриманій в результаті самовільних передчасних пологів (або кесаревого розтину) в II та в ранній фазі III триместру вагітності. Після народження (вилучення) дитини плацента самовільно народжувалась без активного відділення рукою. З плаценти вирізали шматочки розмірами 2х2х3 см та фіксували в 10% нейтральному формаліні. Шматочки плацент проводились за загальноприйнятою гістологічною схемою, готувались зрізи товщиною 5-6 мікрон і забарвлювались гематоксиліном та еозином. Після попереднього прогляду забарвлених мікропрепаратів відбирали ті блоки, в яких були в наявності необхідні нам компоненти плацент (тканина ворсин та децидуальна тканина). З цих блоків виготовляли додаткові зрізи, на яких і здійснювалась імунопероксидазна візуалізація факторів, що досліджувались.

Субпопуляції плацентарних макрофагів M_1 та M_2 визначались шляхом непрямого біотин-екстравідин-пероксидазного методу на парафінових зрізах товщиною 5-6 мкм. Метод базується на взаємодії тканьового антигену та специфічних антитіл. Імуногістохімічне дослідження проводилось у патоморфологічній лабораторії «CSD Health Care» (м.Київ), яка є членом європейської системи контролю якості NordiQC.

Всього були обстежені 62 вагітні: контрольна група - КГ (здорові вагітні) **(**30 осіб**)** з відсутністю факторів ризику виникнення прееклампсії, непорушеним кровоплином у спіральних артеріях матки в області плацентарної ділянки у терміні $18-20^{+6}$ тижнів вагітності (другий УЗД-скринінг згідно Наказу МОЗ України №417 від 15.07.2011 року), у яких не було виявлено інфекції в цервікальному каналі. Матеріал для імуногістохімічного визначення субпопуляцій макрофагів M_1 та M_2 в плаценті (в якості контролю, для порівняння із

даними в основній групі) отримували в II триместрі вагітності при плановому розродженні здорових жінок із монохоріальною моноамніотичною двійнею без акушерської та екстрагенітальної патології (яких оперували за протоколом в 32 тижні вагітності); основна група (ОГ) – (32 вагітні) - жінки групи підвищеного ризику по виникненню прееклампсії, з порушеним кровоплином у спіральних артеріях матки в області плацентарної ділянки у терміні 18-20^{+6} тижнів вагітності без інфікування нижніх відділів статевого тракту, які відмовились від удосконаленої вторинної профілактики прееклампсії, тому отримували лікування згідно нормативним настановам (75 мг ацетилсаліцилової кислоти та 2 г кальцію в перерахунку на діючу речовину).

Всіх жінок обстежували двічі за вагітність (в 18-20^{+6} тижнів та 28-34 тижні вагітності).

Отримані результати обробляли на ПК «Asus F3Ke» за допомогою статистичної програми «STATISTICA» («StatSoft Inc.», США).

При виконанні наукової роботи керувались Правилами гуманного ставлення до пацієнта згідно з вимогами Токійської декларації Всесвітньої медичної асоціації, Міжнародними рекомендаціями Гельсинської декларації з прав людини, Конвенцією Ради Європи щодо прав людини і біомедицини, Законами України, наказами МОЗ України та вимогами Етичного Кодексу лікаря України.

Результати дослідження та їх обговорення

Вивчаючи динаміку змін показників прозапальних та протизапальних цитокінів при фізіологічній вагітності та вагітності, ускладненій прееклампсією, виявилось, що у вагітних з групи високого ризику по виникненню прееклампсії (ОГ) спостерігалося значне зростання рівнів прозапальних цитокінів INF-γ та TNF-α. Так, концентрація INF-γ в цервікальному слизі в ОГ становила 13,06 ± 0,70 пг/мл проти 10,42 ± 0,51пг/мл в КГ ($P<0,01$), а вміст TNF-α в ОГ дорівнював 7,05 ± 0,54 пг/мл при показнику в КГ 3,40 ± 0,24 пг/мл ($P<0,001$).

На противагу зростанню рівнів прозапальних цитокінів у обстежених вагітних, концентрація протизапального цитокіну IL-10 достовірно знижувалась, сягаючи величини 6,14±0,19 пг/мл у жінок ОГ проти 9,56 ± 0,63 пг/мл в контрольній групі ($P<0,001$).

Відповідно протилежним змінам вмісту прота протизапальних цитокінів, прогресивно зростав показник коефіцієнту TNF-α/IL-10 від величини 0,36 ± 0,02 в КГ до 1,15 ± 0,06 в ОГ ($P <0,001$). Співвідношення вмісту прозапальних та протизапальних цитокінів зросло в 3,2 рази.

Вже на ранніх термінах вагітності у здорових жінок посилюється вироблення ендотеліальних вазодилятаторів – NO та простацикліну [3,4,11,18]. Це забезпечує достатній плацентарний кровотік, трофіку та оксигенацію плода. При патологічному перебігу вагітності одним із найважливіших патогенетичних факторів є розвиток ендотеліальної дисфункції (ЕД), ключовою ланкою у процесах патогенезу якої є дефіцит ендогенного оксиду азоту (NO) [3,18]. Зниження рівня NO в організмі вагітної призводить до порушення процесів плацентації та є причиною ембріо та фетопатій, синдрому затримки розвитку і антенатальної загибелі плода, прееклампсії [1,3,6,7].

У фізіологічних умовах NO синтезується з L-аргініну під впливом ферменту NO-синтази [196]. Ферменти аргіназа і NO-синтаза конкурують між собою за загальний субстрат – L-аргінін, який за допомогою аргінази гідролізується в орнітин та сечовину, а за допомогою NO-синтази каталізується в оксид азоту і цитрулін [9].

Аргіназа має високу активність, яка може пригнічувати ендотеліальну NO-синтазу (eNOS), тим самим перешкоджаючи продукції оксиду азоту. Один з механізмів протидії активності аргінази полягає в компенсаторній активації патологічної форми NO-синтази - індуцібельної NO-синтази (iNOS) [4,8,9,11,15,18]. Така активація відбувається, переважно, під впливом прозапальних цитокінів.

Нами були вивчена активність iNOS та аргінази в цервікальному слизу у здорових вагітних (група контролю) та у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії, які відмовились від запропонованої їм вторинної профілактики прееклампсії.

Виявилось, що активність iNOS в основній групі (тобто в групі жінок високого ризику виникнення прееклампсії, які відмовились від запропонованого лікування) достовірно зростає (2,90 ± 0,27 мкмоль/хв/1 г білка в ОГ-I проти 1,24 ± 0,16 мкмоль/хв/1 г білка в групі контролю; $P <0,001$).

Була виявлена сильна позитивна кореляція між активністю iNOS та вмістом прозапального цитокіна TNF-α в цервікальному слизі ($r=0,78$; $P<0,001$) та помірно сильна кореляція між активністю iNOS та вмістом прозапального цитокіна INF-γ в цервікальному слизі ($r=0,56$; $P<0,01$). Тоді як кореляція між активністю iNOS та вмістом протизапального цитокіну IL-10 в цервікальному слизі оказалась з від'ємним направленням ($r=-0,49$; $P_1 <0,05$).

На противагу активації фермента iNOS, активність аргінази в цервікальному слизі у вагітних ОГ порівняно з контролем достовірно знижувалась в 1,7 рази (1,3±0,15 мкмоль/хв/1 г білка в ОГ проти 2,21±0,19 мкмоль/хв/1 г білка в КГ; $P<0,001$). Знайдена від'ємна кореляція між зростанням активності iNOS та зниженням активності аргінази в цервікальному слизі у пацієнток ОГ ($r=-0,41$; $P<0,05$) і позитивна кореляція між падінням вмісту протизапального цитокіну IL-10 та зменшенням активності аргінази в цервікальному слизу ($r=0,54$; $P<0,02$).

Спираючись на наведені дані, можна заключити, що у вагітних з прееклампсією порушуєть-

ся баланс про- та протизапальних цитокінів на користь TNF-α та INF-γ при зменшенні вмісту IL-10, що спричиняє дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, із збільшенням активності iNOS. Активність же аргініну суттєво знижується.

Враховуючи той факт, що INF-γ та iNOS приймають участь в диференціації децидуальних макрофагів із стимуляцією субпопуляції M_1, а IL-10 та аргінін сприяють виробленню субпопуляції M_2 [79,87,90], виникла нагальна потреба дослідити реальне співвідношення цих субпопуляцій децидуальних макрофагів в плацентах породіль, які перенесли прееклампсію під час вагітності, методом імуногістохімії.

В результаті проведеного імуногістохімічного дослідження виявилось, що в плацентах жінок із прееклампсією вміст децидуальних макрофагів фенотипу M_1 в 1,7 разів перевищує їх кількість у здорових жінок, тоді як вміст макрофагів фенотипу M_2, навпаки, зменшувався в 1,5 рази. Відповідно, співвідношення M_1/M_2 у хворих на прееклампсію достовірно зростало в 2,5 рази (1,06±0,30 у хворих проти 0,42 ± 0,043 у здорових жінок; $P<0,05$).

Знайдені достовірні кореляції між вмістом макрофагів субпопуляції M_1 в плаценті жінок, що перенесли прееклампсію в II триместрі або в ранній фазі III триместру вагітності, та концентрацією в цервікальному слизу прозапального цитокіну INF-γ ($r=0,65$; $P<0,05$) та індуцибельної NO-синтази ($r=0,59$; $P<0,05$). Також виявились достовірними кореляції між падінням вмісту макрофагів фенотипу M_2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну ІЛ-10 ($r=0,49$; $P<0,05$) та падінням активності аргінази в цервікальному слизу ($r=0,60$; $P<0,02$).

Тобто, на противагу здоровим вагітним, у жінок з прееклампсією в плаценті домінують децидуальні макрофаги субпопуляції М1 (за рахунок стимулюючого впливу INF-γ та активації індуцибельної NO-синтази), що, вірогідно, спричиняє порушення функції плаценти в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності. Такий висновок походить із особливостей функції макрофагів М1, дія яких направлена на вироблення великої кількості активованих форм кисню (АФК) і оксиду азоту (NO), які обумовлюють цитотоксичну активність активованих макрофагів М1. Внаслідок дії надлишкових кількостей плацентарних макрофагів М1 в II триместрі вагітності, вірогідно, прогресує неадекватне ремоделювання спіральних артерій матки з подальшим виникненням незадовільної перфузії плацентарної тканини і порушенням маткового-плацентарно-плодового кровоплину та розвитком системних проявів прееклампсії [1, 2, 3, 6, 7, 12, 14,18]. Такі порушення диференціації децидуальних макрофагів в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності в сторону фенотипу М1 вірогідно є одним з патофізіологічних механізмів розвитку прееклампсії.

Враховуючи це, напрямки вторинної профілактики прееклампсії необхідно спрямувати на відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів (пригнічення вироблення фенотипу M_1 та стимуляцію продукції фенотипу M_2).

Висновки

1. У вагітних з прееклампсією порушується баланс про- та протизапальних цитокінів на користь TNF-α і INF-γ при зменшенні вмісту IL-10, що спричиняє дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, із збільшенням активності iNOS. Активність же аргініну суттєво знижується.

2. В плацентах жінок із прееклампсією вміст децидуальних макрофагів фенотипу M_1 в 1,7 разів перевищує їх кількість у здорових жінок, тоді як вміст макрофагів фенотипу M_2, навпаки, зменшується в 1,5 рази.

3. Домінування у жінок з прееклампсією децидуальних макрофагів субпопуляції M_1 відбувається внаслідок стимулюючого впливу INF-γ та активації індуцибельної NO-синтази.

4. Таке порушення балансу децидуальних макрофагів на користь субпопуляції M_1, вірогідно, спричиняє прогресування ендотеліальної дисфункції, маніфестацію прееклампсії та порушення функції плаценти в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності.

Перспективи подальших досліджень

Розробити спосіб медикаментозної корекції відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів в II триместрі та ранній фазі III триместру вагітності (пригнічення вироблення фенотипу M_1 та стимуляцію продукції фенотипу M_2).

Література

1. Drannik HM. Klinichna imunolohiya ta alerholohiya. [Clinical immunology and allergology]. K.: Zdorov'ya, 2010. 552 p. (Ukrainian).
2. Lyamina SV, Malyshev IYU, Chesnokova NP, Morozova OL. Polyarizatsiya makrofagov v sovremennoy kontseptsii formirovaniya immunnogo otveta .[Polarization of macrophages in the modern concept of the formation of the immune response]. Fundamental'nyye issledovaniya. 2014;10: 930-935 (Russian).
3. Nurmagomedova PM. Rol' sistemnoy vospalitel'noy reaktsii i endotelial'naya disfunktsiya v patogeneze preeklampsii. .[The role of systemic inflammatory response and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia]. Dagestanskiy gosudarstvennyy meditsinskiy universitet. 2016; 3: 478-82. (Russian).
4. Rozhdestvenskaya TA, Lazuko SS. Vliyaniye indutsibel'noy NO-sintazy i oksida azota v syvorotke krovi beremennykh s arterial'noy gipertenziyey na sostoyaniye plodovogo krovotoka. [The effect of inducible NO-synthase and nitric oxide in the blood serum of pregnant women with arterial hypertension on the state of fetal blood flow]. Problemy reproduktsii. 2015;5:127-131. (Russian).
5. Sarbayeva NN, Ponomareva YUV, Milyakova MN. Makrofagi: raznoobraziye fenotipov i funktsiy, vzaimodeystviye s chuzherodnymi materialami. Geny & Kletki. 2016; 1(XI):9-17.[Macrophages: variety of phenotypes and functions, interaction with foreign materials]. (Russian).
6. Sidorova IS, Milovanov AP, Nikitina NA, Rzayeva AA, Bardachova AV. Osobennosti protsessa platsentatsii pri preeklampsii i eklampsii. . [Features of the placentation process in preeclampsia and eclampsia]. Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa. 2014; 3: 4-10 (Russian).
7. Khlestova GV, Nizyayeva NV. Rol' povrezhdeniya sintsitiotrofoblasta vorsin platsenty v patogeneze preeklampsii. . [The role of damage to the syncytiotrophoblast of the villi of the

placenta in the pathogenesis of preeclampsia]. XI Mezhdunarodnyy kongress po reproduktivnoy meditsine. Materialy. 2017: 215-6 (Russian).
8. Yakushev VI, Pokrovskiy MV, Beskhmel'nitsyna YEA, Myasishcheva OV, Litvinova AS, Krivoshapova II, i dr. Arginaza II – novaya mishen' dlya sozdaniya endotelioprotektorov. [Arginase II is a new target for the creation of endothelioprotectors]. Yezhekvartal'nyy retsenziruyemyy nauchno-prakticheskiy zhurnal. 2015; 1: 26-30. (Ukrainian).
9. Akimov OY. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. Ukr. Biochem. J. 2016; 88(6): 70-5.
10. Calleja-Agius J, Jauniaux E, Muttukrishna S, Calleja-Agius J. Placental villous expression of TNFα and IL-10 and effect of oxygen tension in euploid early pregnancy failure. Am. J. Reprod. Immunol. 2012; 67(6): 515-25.
11. Draganovic D, Lucic N, Jojic D, Milicevic S. Correlation of oxidative stress markers with ultrasound and cardiotocography parameters with hypertension induced pregnancy. Acta Informatica Medica. 2017; 25(1): 19–23.
12. Eslami S, Sahebkar A. Glutathione-S-transferase M1 and T1 null genotypes are associated with hypertension risk: a systematic review and meta-analysis of 12 studies. Curr. Hypertens. Rep. 2014; 16 (6): 432.
13. Etzerodt A, Berg R, Plovsing R, Andersen M, Bebien M, Habbeddine M, Lawrence T. Soluble ectodomain CD163 and extracellular vesicle-associated CD163 are two differently regulated forms of 'soluble CD163' in plasma. Sci Rep. 2017; 7: 11-4.
14. Faas MM, Spaans F, de Vos P. Monocytes and macrophages in pregnancy and pre-eclampsia. Front. Immunol. 2014; 30 (5): 298-302.
15. Hod T, Cerdeira AS, Karumanchi SA. Molecular Mechanisms of Preeclampsia. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2015; 75: 1-8.
16. Italiani P, Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. Front. Immunol. 2014; 3: 113-7.
17. Jetten N, Verbruggen S, Gijbels MJ. Anti-inflammatory M2, but not pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis in vivo. Angiogenesis. 2014; 17(1): 109-118.
18. Matsubara K. Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia. Int. J. Mol. Sci. 2015; 16 (3): 4600-14.
19. Murray PJ. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. Immunity. 2014; 41: 14-20.
20. Svensson-Arvelund J, Ernerudh J. The role of macrophages in promoting and maintaining homeostasis at the fetal-maternal interface. Am. J. Reprod. Immunol. 2015.74(2): 100-9.

Реферат

ФАКТОРЫ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ДЕЦИДУАЛЬНЫХ МАКРОФАГАЛЬНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ M_1 И M_2 У БЕРЕМЕННЫХ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ, НАРУШЕНИЕ ИХ СООТНОШЕНИЯ И ПОИСК ПУТЕЙ КОРРЕКЦИИ.

Ващенко В.Л., Лихачев В.К., Акимов О.Е., Тарановская Е.А.

Ключевые слова: преэклампсия, цитокины, индуцибельная NO-синтаза, аргиназа, децидуальные макрофаги.

Поскольку, согласно данным литературы, несоответствующая поляризация децидуальных макрофагов ассоциируется с аномальными беременностями, такими как спонтанный аборт, преждевременные роды, преэклампсия, задержка развития плода и др., возникла потребность изучить реальное соотношение этих субпопуляций децидуальных макрофагов и факторов их индукции у женщин с преэклампсией. Цель исследования. Выявить особенности дифференциации субпопуляций децидуальных макрофагов M_1 и M_2 у беременных с преэклампсией и влияние на этот процесс факторов их индукции. Материалы и методы исследования. Были изучены концентрации про- и противовоспалительных цитокинов (TNF-α, INF-γ, IL-10) и активность iNOS и аргиназы в цервикальной слизи у беременных с преэклампсией в сравнении с соответствующими показателями у здоровых беременных с последующим сопоставлением этих показателей с количеством децидуальных макрофагов M_1 и M_2 в плацентах обследованных женщин. Определение концентрации цитокинов осуществляли с помощью иммуноферментного анализа. Активность NO-синтазы определяли по разнице концентрации нитритов до и после инкубации цервикальной слизи. Общая аргиназная активность исследовалась путем определения разницы концентрации L-орнитина до и после инкубации в фосфатном буферном растворе, который содержал L-аргинин. Иммуногистохимическое исследование субпопуляций макрофагов M_1 и M_2 в плацентарной ткани проводилось в патоморфологической лаборатории «CSD Health Care» (г.Київ). Всего были обследованы 62 беременные: контрольная группа - КГ (здоровые беременные) (30 женщин) у которых отсутствовали факторы риска возникновения преэклампсии и ненарушенным кровотоком в спиральных артериях матки в области плацентарной площадки в сроке $18\text{-}20^{+6}$ недель беременности. Основную группу (ОГ) (32 беременные) составили женщины группы повышенного риска по возникновению преэклампсии, с нарушенным кровотоком в спиральных артериях матки в области плацентарной площадки в сроке $18\text{-}20^{+6}$ недель, у 14 из которых в последующем манифестировалась преэклампсия. Результаты исследования. У беременных с преэклампсией нарушается баланс про- и противовоспалительных цитокинов в пользу TNF-α и INF-γ при уменьшении содержания IL-10, что обусловливает дисбаланс активности ферментов, которые регулируют обмен L-аргинина, с увеличением активности iNOS. Активность же аргинина значительно снижается. В плацентах женщин с преэклампсией содержание децидуальных макрофагов фенотипа M_1 в 1,7 раз превышает их количество у здоровых женщин, тогда как содержание макрофагов фенотипа M_2, наоборот, уменьшается в 1,5 раза. Показано, что доминирование децидуальных макрофагов субпопуляции M_1 у женщин с преэклампсией происходит за счет стимулирующего влияния INF-γ и активации индуцибельной NO-синтазы. Такое нарушение баланса децидуальных макрофагов в пользу субпопуляции M_1, вероятно, и вызывает прогрессирования эндотелиальной дисфункции, манифестацию преэклампсии и нарушение функции плаценты во II триместре и в ранней фазе III триместра беременности.

Summary

DIFFERENTIATION FACTORS OF M1 AND M2 SUBPOPULATIONS OF DECIDUAL MACROPHAGES IN PREGNANT WOMEN WITH PREECLAMPSIA, THEIR IMBALANCE AND WAYS TO CORRECT IT

Vashchenko V. L., Likhachov V. K., Akimov O. Ye., Taranovska O. O.

Key words: preeclampsia, cytokines, inducible NO-synthase, arginase, decidual macrophages

According to the literature, inappropriate polarization of decidual macrophages is associated with abnormal pregnancy conditions such as spontaneous abortion, premature childbirth, preeclampsia, foetal growth retardation, etc.; therefore, studying the relationship between subpopulations of decidual macrophages and factors promoting their production in women with preeclampsia is of great clinical relevance. The purpose of this study was to identify the features of differentiation in subpopulations M1 and M2 of decidual macrophages in pregnant women with preeclampsia and to assess the impact of factors promoting their induction. Materials and methods. The concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines (TNF-α, INF-γ, IL-10) and the activity of iNOS and arginase in cervical mucus in pregnant women with preeclampsia were studied in comparison with the corresponding indicators in healthy pregnant women, with subsequent comparison of these indicators with the number of decidual macrophages M1 and M2 in the placentas of the examined women. We determined the concentration of cytokines by using immunoassay. NO synthase activity was determined by the difference in nitrite concentration before and after cervical mucus incubation. The total arginase activity was assessed by the difference in the concentration of L-ornithine before and after incubation in phosphate buffered saline, which contained L-arginine. Immunohistochemical study of macrophages M1 and M2 in placental tissue was carried out in the pathomorphological laboratory "CSD Health Care" (Kiev). A total of 62 pregnant women were examined: the control group included 30 healthy pregnant women who did not have risk factors for preeclampsia and unimpaired circulation in the uterine spiral arteries in the area of the placental site at 18-20 + 6 weeks of gestation. The study group included 32 pregnant women at high risk to develop preeclampsia, with impaired circulation in the uterine spiral arteries in the area of the placental site at 18-20 + 6 weeks of gestation; 14 of them then developed preeclampsia. Results. In pregnant women with preeclampsia, the balance of pro- and anti-inflammatory cytokines is impaired in favour of TNF-α and INF-γ with a decrease in IL-10 content that results in an imbalance in the activity of enzymes regulating the L-arginine metabolism with the following increase in iNOS activity. The activity of arginine is significantly reduced. In the placentas of women with preeclampsia, the content of decidual macrophages M1 phenotype is 1.7 times higher than their number in healthy women, while the content of macrophages M2 phenotype, on the contrary, goes down in 1.5 times. The study has shown that the predominance of decidual M1 macrophages in women with preeclampsia occurs due to the stimulating effect of INF-γ and the activation of inducible NO-synthase. This imbalance of decidual macrophages in favour of the M1 subpopulation is likely to cause the progression of endothelial dysfunction, manifestation of preeclampsia, and dysfunction of the placenta in the second trimester and in the early phase of the third trimester of gestation.