

АНОТАЦІЯ

Ващенко В.Л. Клініко-імунологічні механізми формування макрофагального дисбалансу при прееклампсії та оптимізація підходів до вторинної її профілактики. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина – Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2021.

Дисертація присвячена вивченню впливу порушень поляризації децидуальних макрофагів на маніфестацію і ступінь тяжкості прееклампсії та розробці ефективних заходів по її вторинній профілактиці.

Децидуальні макрофаги відіграють суттєву роль як у фізіологічному, так і патологічному перебігу вагітності за рахунок їх пластичності та імуносупресивних властивостей, участі у ремоделюванні тканин та судин, здатності формування місцевого адаптивного імунітету. Але на сьогоднішній день ще відсутня достатня кількість даних щодо особливостей рівнів цитокінів, характеру фенотипових та морфо-функціональних змін макрофагів, співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів при фізіологічному і патологічному перебігу вагітності, що обмежує розуміння патогенетичної ролі M1 та M2 децидуальних макрофагів при прееклампсії. Це визначає потребу в розробці шляхів вторинної профілактики захворювання, які б дали можливість розробити ефективну тактику ведення вагітних з прееклампсією, цілеспрямовано направлену на нормалізацію балансу субпопуляцій децидуальних макрофагів для зниження показників материнської і перинатальної захворюваності та смертності.

В результаті проведеного дослідження уточнено дані щодо факторів високого ризику виникнення прееклампсії, які можна оцінити вже в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, задовго до клінічної маніфестації даного захворювання (анамнестичні фактори та зниження кровоплину в спіральних артеріях матки, які розташовані в області плацентарної площадки).

Встановлено, що у вагітних з прееклампсією проявились явища імуносупресії і клітинно-гуморального дисбалансу: достовірне зниження вмісту Т-хелперів при підвищенні концентрації Т-супресорів/кілерів, падіння кількості

В-клітин і пов'язане з цим зниження рівня IgG ($r=0,58$ $P<0,01$). Виявлено суттєве зростання кількості циркулюючих імунних комплексів.

Доведено значне зростання рівнів прозапальних цитокінів INF- γ (в 1,5 рази) та TNF- α (в 2,6 рази) при достовірному зниженні концентрації протизапального цитокіну IL-10 (в 1,9 рази) порівняно із здоровими вагітними; ці зміни у вагітних в II та ранній фазі III триместру вагітності сприяють порушенню правильного співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 в плаценті на користь субпопуляції M1 (тоді як у здорових вагітних в цьому терміні повинні переважати децидуальні макрофаги субпопуляції M2). Знайдені достовірні кореляції між підвищеним вмістом макрофагів субпопуляції M1 в плаценті жінок з прееклампсією та зростанням концентрації в цервікальному слизу прозапального цитокіну INF- γ ($r=0,65$; $P<0,05$) та індукцибельної NO-синтази ($r=0,59$; $P<0,05$). Також виявились достовірними кореляції між падінням вмісту макрофагів фенотипу M2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну IL-10 ($r=0,49$; $P<0,05$) та падінням активності аргінази в цервікальному слизу ($r=0,60$; $P<0,02$).

Обґрунтовані можливість і доцільність використання в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності в якості маркерів високої вірогідності виникнення в подальшому прееклампсії: анамнестичні фактори ризику; надлишкова вага тіла; виявлення при УЗД в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності збільшення індексу резистентності в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки до величини 0,7 і більше (в подальшому у 71% таких жінок виникає прееклампсія); зростання рівня циркулюючих імунних комплексів в крові в цьому ж терміні вагітності більше 100 од/мл (вірогідність виникнення прееклампсії становить 67%); зниження рівнів Т-хелперів (CD4+) та В-лімфоцитів (CD22+) в крові вагітних.

Патогенетично обґрунтовано застосування вторинної профілактики прееклампсії у жінок групи високого ризику по її виникненню шляхом відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів (пригнічення вироблення фенотипу M1 та стимуляція диференціації фенотипу

M2) впливом на вироблення факторів їх індукції (пригнічення продукції iNOS та прозапального цитокіну INF- γ для субпопуляції M1 та активації функціонування аргінази і вироблення протизапального цитокіну IL-10 – для субпопуляції M2). Для цього, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, були застосовані: метформін, який пригнічує транслокацію нуклеарного фактора транскрипції (NF- κ B), що призводить до зменшення вироблення прозапальних цитокінів та зниження диференціації M1-макрофагів; активна форма вітаміну D₃ (1,25[OH]2D), який не тільки сприяє диференціації макрофагів M2, але також пригнічує диференціювання макрофагів M1; корвітин, діючою речовиною якого є кверцетин, що гальмує продукцію прозапальних цитокінів та змінює баланс ендотеліальних вазоактивних речовин на користь вазодилататорів, за рахунок чого зростає регіональний кровоплин, в тому числі в спіральних артеріях матки.

Доведено, що застосування запропонованого нами методу вторинної профілактики виникнення прееклампсії у вагітних групи високого ризику по даному захворюванню призвело до позитивних змін у роботі системи імунітету, обміну оксиду азоту в цервікальному слизу та нормалізації диференціації децидуальних макрофагів в плаценті на користь субпопуляції M2 з відповідним покращенням клінічних наслідків: попередження порушень кровоплину в матково-плацентарно-плодовій системі, зниження частоти маніфестації прееклампсії у вагітних групи високого ризику в 1,4 рази, зменшення частоти передчасних розроджень в 2,2 рази та асфіксії новонароджених – в 4 рази, зменшення народження дітей з екстремально низькою масою тіла – в 2,1 рази.

Ключові слова: імунітет, децидуальні макрофаги, цитокіни, індукцибельна NO-синтаза, аргіназа, індекси судинного опору, прееклампсія, вагітність.

SUMMARY

Vaschenko V.L. Clinical and immunological mechanisms of macrophagal imbalance formation in preeclampsia and optimization of approaches to its secondary prevention. – On the manuscript basis.

Thesis for the scientific degree Doctor of Philosophy in specialty 222 – Medicine - Poltava State Medical University of the Ministry of Public Health of Ukraine, Poltava, 2021.

The thesis is devoted to the study of the influence of polarization disorders of decidual macrophages on the manifestation and severity of preeclampsia and the development of effective measures for its secondary prevention.

Decidual macrophages play a significant role in both physiological and pathological course of pregnancy due to their plasticity and immunosuppressive properties, participation in tissue and vascular remodeling, and the ability to form local adaptive immunity. However, at present, there are no sufficient data on the features of levels of cytokines, nature of phenotypic and morpho-functional changes of macrophages, the ratio of decidual macrophages subpopulations in physiological and pathological course of pregnancy, which limits the understanding of the pathogenetic role of M1 and M2 decidual macrophages in preeclampsia. This determines the need to develop ways of secondary prevention of the disease, which would allow us to develop effective management of pregnant women with preeclampsia, aimed at normalizing the balance of subpopulations of decidual macrophages to reduce maternal and perinatal morbidity and mortality.

The study specified the data on high risk factors for preeclampsia, which can be assessed as early as 18-20⁺⁶ weeks of pregnancy, long before the clinical manifestation of the disease (anamnestic factors and decreased blood flow in the spiral arteries of the uterus, located in the placental area).

It was found that pregnant women with preeclampsia demonstrated the effects of immunosuppression and cell-humoral imbalance: a significant decrease in the content of T-helpers with increasing concentrations of T-suppressors/killers, a decrease in the number of B cells and the associated decrease in IgG ($r=0.58$; $P<0.01$). There was a significant increase in the number of circulating immune complexes.

The study proved a significant increase in the levels of pro-inflammatory cytokines INF- γ (by 1.5 times) and TNF- α (by 2.6 times) with a significant decrease in the concentration of anti-inflammatory cytokine IL-10 (by 1.9 times) as compared to healthy pregnant women; these changes in pregnant women in the second and early phase of the third trimester of pregnancy contribute to the disruption of the correct ratio of decidual M1 and M2 macrophages subpopulations in the placenta in favor of the M1 subpopulation (whereas in healthy pregnant women, this period should be dominated by decidual macrophages of the M2 subpopulation). Significant correlations were found between the increased content of macrophages of the M1 subpopulation in the placenta of women with preeclampsia and the increase in the concentration of pro-inflammatory cytokine INF- γ ($r=0.65$; $P<0.05$) and inducible NO synthase in the cervical mucus ($r=0,59$; $P<0.05$). There were also significant correlations between the decrease in the content of macrophages of the M2 phenotype in the placenta of such women and the decrease in the level of anti-inflammatory cytokine IL-10 ($r=0.49$; $P<0.05$) and the decrease in arginase activity in cervical mucus ($r=0.60$; $P<0.02$).

The thesis substantiated the possibility and expediency of using the following data in 18-20⁺⁶ weeks of pregnancy as markers of high probability of subsequent preeclampsia: anamnestic risk factors; detection by ultrasound at 18-20⁺⁶ weeks of pregnancy an increased resistance index in the spiral arteries of the uterus in the placental area up to a value of 0.7 or more (subsequently, 71% of such women have preeclampsia); an increase in the level of circulating immune complexes in the blood in the same period of pregnancy more than 100 units/ml (the probability of preeclampsia is 67%); a decrease in the levels of T-helpers (CD4+) and B-lymphocytes (CD22+) in the blood of pregnant women.

The use of secondary prevention of preeclampsia in women at high risk of its occurrence by restoring the correct differentiation of subpopulations of decidual macrophages (inhibition of M1 phenotype production and stimulation of M2 phenotype differentiation) is pathogenetically substantiated by influencing the production of factors of their induction (inhibition of iNOS and pro-inflammatory cytokine INF- γ for M1 subpopulation and activation of arginase function and

production of anti-inflammatory cytokine IL-10 – for M2 subpopulation). For this purpose, starting from 18-20⁺⁶ weeks of pregnancy, the following agents were used: metformin, which inhibits the translocation of nuclear transcription factor (NF- κ B) that decreases the production of pro-inflammatory cytokines and reduces the differentiation of M1 macrophages; active form of vitamin D3 (1.25[OH]₂D), which not only promotes the differentiation of M2 macrophages, but also inhibits the differentiation of M1 macrophages; corvutin, whose active substance is quercetin, which inhibits the production of pro-inflammatory cytokines and changes the balance of endothelial vasoactive substances in favor of vasodilators, thereby increasing regional blood flow, including in the spiral arteries of the uterus.

It was proved that the application of the proposed method for secondary prevention of preeclampsia in pregnant women at high risk for this disease has led to positive changes in the immune system, nitric oxide metabolism in cervical mucus and normalization of differentiation of decidual macrophages in the placenta in favor of the M2 subpopulation with a corresponding improvement in clinical consequences: prevention of blood flow disorders in the uterine-placental-fetal system, reducing the incidence of preeclampsia in high-risk pregnant women by 1.4 times, decreasing the incidence of premature births by 2.2 times and asphyxia of newborns – by 4 times, reducing the birth of children with extremely low weight body – by 2.1 times.

Key words: immunity, decidual macrophages, cytokines, inducible NO-synthase, arginase, vascular resistance indices, preeclampsia, pregnancy.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті:

1. Makarov O, Likhachov V, Taranovskaya O, Dobrovolska L, Vashchenko V. Role of uterine blood flow disturbances in the development of late gestosis (Роль порушень маткового кровотоку у розвитку пізнього гестозу). *Wiadomosci Lekarskie*. 2018; LXXI (9):1719-1721. (Scopus). *(Аспіранткою проведено клінічні спостереження, аналіз та узагальнення результатів дослідження)*.
2. Likhachov V, Vashchenko V, Shymanska Ya. Features of structure and functions of decidual macrophages in healthy pregnancy and preeclampsia (Особливості будови та функції децидуальних макрофагів у здорових вагітних та у жінок з преєклампсією). *Проблеми екології та медицини*. 2019; 23 (5-6):50-55. *(Аспіранткою проведено пошук та узагальнення наукової літератури по даній темі, підготовка статті до друку)*.
3. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Тарановська ОО. Перебіг вагітності та її завершення у жінок групи високого ризику по виникненню преєклампсії. *Вісник Української медичної стоматологічної академії. Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2020; Том 20. Випуск 1 (69):106-110. *(Аспіранткою проведено клінічні спостереження, аналіз та узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка статті до друку)*.
4. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Добровольська ЛМ, Тарановська ОО. Вплив вторинної профілактики розвитку преєклампсії у жінок групи високого ризику на показники фетоплацентарного кровотоку. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020; 157 (3):94-97. *(Аспіранткою проведено клініко-лабораторні спостереження, аналіз результатів дослідження, їх статистична обробка)*.
5. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Акімов ОЄ, Тарановська ОО. Фактори диференціації децидуальних макрофагальних субпопуляцій M_1 та M_2 у вагітних з преєклампсією, порушення їх співвідношення та пошуки шляхів корекції. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*.

Актуальні проблеми сучасної медицини. 2020; Том 20. Випуск 3 (71):14-19. *(Аспіранткою виконані клінічні спостереження, проведений забір матеріалів для лабораторного та імуногістохімічного дослідження, проаналізовано отримані результати).*

6. Ліхачов ВК, Ващенко ВЛ, Тарановська ОО, Добровольська ЛМ, Макаров ОГ. Зміни показників клітинно-гуморального імунітету та рівень про- і протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії. Світ медицини та біології. 2021; 76 (2):79-83. (Web of Science) *(Аспіранткою проведені клінічні спостереження, виконаний забір матеріалів для лабораторного аналізу та узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка статті до друку).*

Патенти:

1. Ліхачов ВК, Тарановська ОО, Добровольська ЛМ, Ващенко ВЛ.

Спосіб доклінічного прогнозування прееклампсії за рівнем преплацентарного кровотоку. Патент України на корисну модель №132404, МПК А61В 17/42.- Номер заявки 201809448.-Дата заявки.-19.09.2018.-Чинні права на корисну модель з 25.02.2019.- Оpubліковано 25.02.2019.- Бюл.№4. *(Аспіранткою проведена частина клінічних спостережень, підготовка документації, що подавалась в патентний відділ УМСА).*

Нововведення

- 1.Ліхачов ВК, Тарановська ОО, Добровольська ЛМ, Ващенко ВЛ.

Спосіб доклінічного прогнозування прееклампсії за рівнем преплацентарного кровотоку. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сфері охорони здоров'я (Випуск 6).- Київ,2020.- Реєстровий №21/06/19.- С.22. *(Аспіранткою проведені клінічні спостереження, підготовка документації, що подавалась в патентний відділ УМСА).*