

УДК 618.3-008.6-084:612.015/017
10.24061/2413-4260. XV.1.55.2025.10

В. Л. Ващенко

Полтавський державний медичний університет
(м. Полтава, Україна)

ВПЛИВ ПРОФІЛАКТИЧНОГО ЛІКУВАННЯ ВАГІТНИХ ІЗ ПІДВИЩЕНИМ РИЗИКОМ ПРЕЕКЛАМПСІЇ НА НАЯВНИЙ ДИСБАЛАНС ПРО- ТА ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ, АКТИВНІСТЬ iNOS ТА АРГІНАЗИ

Резюме

Частота вагітностей, що перебігають з преєклампсією, становить 5-10%, як причина материнської смертності вони займають 3-4 місце. У разі наявності цитокінового дисбалансу із переважанням продукції прозапальних цитокінів формується системна ендотеліальна дисфункція, при якій неповноцінна інвазія трофобласту в спіральні артерії матки сприяє виникненню різноманітних гестаційних ускладнень.

Мета і завдання дослідження: вивчити рівень про- і протизапальних цитокінів та активності індукцельної NO-синтази і аргінази в слизі цервікального каналу у вагітних із підвищеним ризиком виникнення преєклампсії; оцінити ефективність застосованого лікування у збалансуванні цитокінової рівноваги та нормалізації обміну оксиду азоту.

Матеріал і методи дослідження. Для вирішення поставленої мети були обстежені 110 вагітних, з яких 28 жінок склали контрольну групу (КГ) (здорові вагітні); 82 жінки – основну групу (ОГ) (це були жінки групи підвищеного ризику преєклампсії за анамнестичними факторами та із зменшенням току крові в спіральних артеріях матки, які кровопостачають плаценту, в 18-20^{ти} тижнів вагітності). Серед вагітних основної групи 33 не отримували удосконалену вторинну профілактику преєклампсії (ОГ-I), а 49 вагітних (ОГ-II) – приймали метформін, вітамін D³ та кверцетин з повідомом. Забір цервікального слизу виконувався стерильною циточкою, яку поміщали в 2 мл 0,2М трис-буферного розчину (pH=7,4) і зберігали в замороженому вигляді. Вміст про- та протизапальних цитокінів (INF-γ, TNF-α, IL-10) досліджували з використанням відповідних стандартних комерційних наборів реагентів згідно з інструкціями виробника. Активність індукцельної NO-синтази в слизі цервікального каналу визначали, віднімаючи показники активності конститутивних ізоформ (cNOS) із загальної активності NO-синтази. Активність аргінази визначали за різницею концентрацій L-орнітину до і після інкубації при t=37,0 °C. Отримані показники виражали в мкмоль/хв./на 1г білка цервікального слизу. Дослідження проведено із дотриманням положень про права людини та біомедицину. Обробку результатів дослідження проводили методами математичної статистики з розрахунком середніх вибірових значень (M), дисперсії (σ) та помилок середніх значень (m), оцінкою критерію Ст'юдента за допомогою статистичної програми «STATISTICA» («StatSoft Inc.», США). Стаття є фрагментом ініціативної НДР кафедри акушерства та гінекології № 2 Полтавського державного медичного університету «Оптимізація підходів до ведення вагітності у жінок груп високого ризику по виникненню акушерської та перинатальної патології» (№ держреєстрації 0122U201228, термін виконання 2022-2027рр.).

Результати та їх обговорення. У вагітних з групи підвищеного ризику виникнення преєклампсії, які не отримували профілактичного лікування (ОГ-I), виявлено збільшення вмісту прозапальних цитокінів у цервікальному слизі; рівень же протизапального цитокіну IL-10 в ОГ-I достовірно знижувався. Активність iNOS в цервікальному слизі в ОГ-I значно зросла, тоді як активність аргінази порівняно з контролем достовірно знижувався. Виявлені достовірні кореляції між активністю iNOS, з одного боку, і рівнем в цервікальному слизі TNF-α (r=0,77; P0,001) та INF-γ (r=0,55; P0,01), з другого боку. Знайдена позитивна кореляція між зниженням рівня IL-10 та падінням активності аргінази в цервікальному слизі (r=-0,56; P0,02), а також негативна кореляція між збільшенням активності iNOS та зменшенням активності аргінази (r=-0,43; P0,05). У жінок ОГ-II, які прийняли курс профілактичного лікування, порівняно з ОГ-I, відбулося зменшення рівнів прозапальних цитокінів в цервікальному слизі: INF-γ в 1,2 рази, TNF-α – в 1,8 рази. Вміст протизапального цитокіну IL-10 при цьому достовірно зростав (в 1,5 рази). Застосування профілактичної терапії знизило активність iNOS в цервікальному слизі в 1,9 рази, а активність аргінази зросла в 1,6 рази. Клінічно профілактичне лікування дозволило знизити частоту виникнення преєклампсії в півтора рази і в 1,8 рази зменшити перинатальну смертність.

Висновки: У жінок групи підвищеного ризику виникнення преєклампсії, які не отримували профілактичного лікування, в 28-34 тижні вагітності виявлено зростання у цервікальному слизі рівнів прозапальних цитокінів INF-γ та TNF-α при зниженні концентрації протизапального цитокіну IL-10; відзначалося підвищення активності iNOS при зниженні активності аргінази. У жінок ОГ-II, які прийняли курс профілактичного лікування, було виявлено зменшення концентрації прозапальних цитокінів в цервікальному слизі, а вміст протизапального цитокіну IL-10 достовірно зростав; констатовано зниження активності iNOS в цервікальному слизі при збільшенні активності аргінази. Клінічно профілактичне лікування дозволило знизити частоту виникнення преєклампсії в півтора рази і в 1,8 рази зменшити перинатальну смертність.

Ключові слова: прозапальні цитокіни; протизапальні цитокіни; NO-синтаза; аргіназа; метформін; вітамін D³; кверцетин.

Вступ

Частота вагітностей, що перебігають з преєклампсією, становить 5-10%; як причина материнської смертності вони знаходяться на 3-4 місці [1]. У здорових жінок на етапі формування плаценти відбувається

трофобластична трансформація спіральних артерій матки; до другого триместру вагітності ендотеліальний та м'язовий шар цих артерій повністю заміщуються на фібриноід та стають нечутливими до дії ендогенних пресорних агентів [2,3,4].

Прееклампсія та еклампсія в теперішній час розглядаються як поліорганна недостатність, що первинно обумовлена зниженою інвазією трофобласту в спіральні артерії матки [5] із виникненням вазоконстрикції та ендотеліальної дисфункції; при цьому прогресує гіповоле́мія, гіперкоагуляція та плацентарна дисфункція, і виникає прееклампсія [6].

Починаючи з ранніх термінів фізіологічної вагітності, збільшується відсоток клітин Th2-типу, які сприяють виробленню Ig G. Продукція IgG знаходиться під контролем IL-6. Зростання вмісту цього інтерлейкіну допомагає в захисті антигенів плода від біологічних механізмів імунної відповіді матері [6,7].

У ранні терміни вагітності активується імунна супресія, яка спричинена зміщенням цитокинового балансу в бік продукції Th2-типу. Вони блокують вироблення прозапальних цитокинів моноцитами та активність Т-цитотоксичних клітин. У ранні терміни гестації важливу роль відіграють цитокини IL-4 та IL-10, які сприяють правильному розвитку вагітності. Збільшення вмісту IL-4 пригнічує синтез прозапальних цитокинів IFN γ і IL-12 [6,7,8].

Переважа́ння продукції прозапальних цитокинів сприяє формуванню ендотеліальної дисфункції, що викликає виникнення різноманітних гестаційних ускладнень [9,10].

У здорових жінок в ранніх термінах вагітності посилюється вироблення оксиду азоту (NO) та простагліну. NO є потужним вазодилатором, що сприяє нормальному плацентарному кровотоку [11]. Зменшення рівня NO призводить до порушення процесів плацентації та затримки росту плода [2,12]. NO-синтаза і аргіназа конкурують за L-аргінін [13,14]. Аргіназа пригнічує ендотеліальну NO-синтазу (eNOS), що викликає активацію індукцйбельної NO-синтази (iNOS) із збільшенням вироблення оксиду азоту [11,15].

Мета дослідження: вивчити рівень про- і протизапальних цитокинів та активності індукцйбельної NO-синтази і аргінази в слизі цервікального каналу у вагітних із підвищеним ризиком виникнення прееклампсії; оцінити ефективність застосованого лікування у збалансуванні цитокинової рівноваги та нормалізації обміну оксиду азоту.

Матеріал і методи дослідження

Для вирішення поставленої мети були обстежені 110 вагітних, з яких 28 жінок склали контрольну групу (КГ) (здорові вагітні); 82 жінки – основну групу (ОГ) (це були жінки групи підвищеного ризику прееклампсії за анамнестичними факторами та зі зменшенням току крові в спіральних артеріях матки, які кровопостачають плаценту, в 18-20⁺6 тижнів вагітності). Серед вагітних основної групи 33 жінки не отримували удосконалену вторинну профілактику прееклампсії (ОГ-I), а 49 вагітних (ОГ-II) – приймали метформін, вітамін D³ та кверцетин з повідомом.

Даний комплекс вторинної профілактики прееклампсії був розроблений, виходячи з наступних причин:

- **метформін** пригнічує вироблення прозапальних цитокинів макрофагами і ендотеліоцитами людини че-

рез зменшення активності нуклеарного фактора транскрипції [16]; він також нормалізує функцію ендотелію та збільшує вироблення протизапальних цитокинів [17,18]; препарат призначався по 500 мг на добу до 34 тижнів вагітності;

- **вітамін D** є регулятором децидуального імунітету, він знижує продукцію прозапальних цитокинів і нормалізує обмін оксиду азоту [19,20,21,22,23]; з 18-20⁺6 тижнів вагітності і до розродження жінкам ми призначали по 2000 МО вітаміну D³ в день вагітним з наявними анамнестичними факторами ризику виникнення прееклампсії та зниженням кровотоку в спіральних артеріях матки;

- **комплекс кверцетину з повідомом:** кверцетин пригнічує вироблення прозапальних цитокинів і рівень вазопресорів [24] та збільшує продукцію вазодилаторів із відповідним зростанням кровоплину в спіральних артеріях матки у вагітних з прееклампсією. Препарат призначався внутрішньовенно по 500 мг/добу протягом 10 днів. Повторний курс проводили через 6 тижнів.

Визначення рівня про- та протизапальних цитокинів і активності iNOS та аргінази у цервікальному слизі проводили в 5-6, в 17-18 та в 28-34 тижні вагітності.

Забір цервікального слизу виконувався стерильною шпателькою, яку поміщали в 2 мл 0,2М трис-буферного розчину (pH=7,4) і зберігали в замороженому вигляді. Вміст про- та протизапальних цитокинів (TNF- α , IFN- γ , IL-10) досліджували з використанням відповідних стандартних комерційних наборів реагентів фірми «Vector BEST» згідно з інструкціями виробника. Додатково розраховувався індекс TNF- α / IL-10.

Активність індукцйбельної NO-синтази в слизі цервікального каналу визначали, віднімаючи показник активності конститутивних ізоформ (cNOS) із загальної активності NO-синтази [11]. Активність аргінази визначали за різницею концентрацій L-орнітину до і після інкубації при t=37,0 °C [25]. Отримані показники виражали в мкмоль/хв. на 1г білка цервікального слизу.

Дослідження проведено із дотриманням положень про права людини та біомедицину. Обробку результатів дослідження проводили методами математичної статистики з розрахунком середніх вибірових значень (M), дисперсії (σ) та помилок середніх значень (m), оцінкою критерію Ст'юдента за допомогою статистичної програми «STATISTICA» («StatSoft Inc.», США).

Стаття є фрагментом ініціативної НДР кафедри акушерства та гінекології № 2 Полтавського державного медичного університету «Оптимізація підходів до ведення вагітності у жінок груп високого ризику по виникненню акушерської та перинатальної патології» (№ держреєстрації 0122U201228, термін виконання 2022-2027рр.).

Результати та їх обговорення

У вагітних з групи підвищеного ризику виникнення прееклампсії, які не приймали профілактичне лікування (ОГ-I), виявлено збільшення вмісту прозапальних цитокинів у цервікальному слизі (табл. 1): в ОГ-I концентрація IFN- γ у цервікальному слизі становила 13,1 $\pm$ 0,71 пг/мл проти 10,4 $\pm$ 0,52 пг/мл у КГ (P0,01),

а вміст TNF- α дорівнював $7,1 \pm 0,55$ пг/мл при показнику в КГ $3,4 \pm 0,25$ пг/мл ($P_{0,001}$). Вміст протизапального цитокину IL-10 в ОГ-I знижувався, становлячи $6,1 \pm 0,2$ пг/мл проти $9,6 \pm 0,64$ в групі контролю ($P_{0,001}$).

Коефіцієнт TNF- α /IL-10 збільшувався від показника $0,35 \pm 0,03$ в КГ до $1,16 \pm 0,07$ в ОГ-I ($P_{0,001}$), тобто співвідношення вмісту прозапальних та протизапальних цитокинів в ОГ-I зростало більше ніж у 3 рази.

Таблиця 1

Зміни в III триместрі вагітності рівнів прозапальних та протизапальних цитокинів у цервікальному слизі у жінок, які приймали метформін, вітамін D3 та кверцетин з повідомом (ОГ-II) в порівнянні із вагітними, які не отримували такого лікування (ОГ-I)

Рівень про- та протизапальних цитокинів	Групи жінок		
	Контрольна група n=28	Основна група-I n=33	Основна група-II n=49
TNF- α , пг/мл	$3,4 \pm 0,25$	$7,1 \pm 0,55$ $P_{1,0,001}$	$4,0 \pm 0,33$ $P_1 > 0,1$ $P_2 0,001$
INF- γ , пг/мл	$10,4 \pm 0,52$	$13,1 \pm 0,71$ $P_{1,0,01}$	$11,3 \pm 0,8$ $P_1 P_2 > 0,1$
IL-10, пг/мл	$9,6 \pm 0,64$	$6,1 \pm 0,2$ $P_{1,0,001}$	$8,9 \pm 0,5$ $P_1 > 0,2$ $P_2 0,001$
TNF- α /IL-10	$0,35 \pm 0,03$	$1,16 \pm 0,07$ $P_{1,0,001}$	$0,45 \pm 0,13$ $P_1 > 0,5$ $P_2 0,001$

У жінок ОГ-II після лікування було знайдено зменшення рівня INF- γ , який в даній групі становив $11,3 \pm 0,8$ пг/мл проти $10,4 \pm 0,52$ пг/мл в КГ ($P > 0,1$), а рівень TNF- α в ОГ-II становив $4,0 \pm 0,33$ пг/мл при показнику у здорових жінок $3,4 \pm 0,25$ пг/мл ($P > 0,1$). Вміст протизапального цитокину IL-10 в ОГ-II зростав до показника $8,9 \pm 0,5$ пг/мл при значенні в КГ $9,6 \pm 0,64$ ($P > 0,2$). Коефіцієнт TNF- α /IL-10 в ОГ зменшився до $0,45 \pm 0,13$ проти $1,16 \pm 0,07$ в ОГ-I ($P_{0,001}$) (табл. 1).

Однією з ланок патогенезу прееклампсії є дефіцит оксиду азоту NO; цей вазодилататор протистоїть дії вазоконстрикторів; він бере участь у регуляції тону судин та інтенсивності кровотоку в них [11, 12] Зниження вмісту

оксиду азоту призводить до неповноцінної плацентації і, відповідно, до затримки росту плода [6, 7]. Оксид азоту синтезується з L-аргініну за допомогою ендотеліальної NO-синтази. За загальний субстрат L-аргініну з NO-синтазою конкурує аргіназа [11, 13, 14]. При цьому активується індукційна NO-синтаза (iNOS). Ця активація відбувається за допомогою прозапальних цитокинів.

В ОГ-I збільшилась активність iNOS (табл. 2) ($2,91 \pm 0,3$ мкмоль/хв./1г білка проти $1,2 \pm 0,17$ мкмоль/хв./1г в групі контролю; $P_{0,001}$). Активність же аргінази у жінок ОГ-I порівняно з ГК зменшилась в 1,68 рази: $1,31 \pm 0,61$ мкмоль/хв./1г білка в ОГ-I порівняно із $2,20 \pm 0,2$ мкмоль/хв./1г білка в КГ ($P_{0,001}$).

Таблиця 2

Зміни в III триместрі вагітності активності індукційної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизі у жінок, які приймали метформін, вітамін D3 та кверцетин з повідомом (ОГ-II) в порівнянні із вагітними, які не отримували такого лікування (ОГ-I)

Вміст iNOS та аргінази	Групи жінок		
	Контрольна група n=28	Основна група-I n=33	Основна група-II n=49
Активність iNOS, мкмоль/хв/1 г білка	$1,2 \pm 0,17$	$2,91 \pm 0,3$ $P_{1,0,001}$	$1,50 \pm 0,22$ $P_1 > 0,2$ $P_2 0,001$
Активність аргінази, мкмоль/хв/1 г білка	$2,20 \pm 0,2$	$1,31 \pm 0,16$ $P_{1,0,001}$	$2,10 \pm 0,23$ $P_1 > 0,5$ $P_2 0,01$

У вагітних ОГ-II, які, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, приймали метформін, вітамін D³ та кверцетин з повідомом, нормалізувався баланс активності iNOS та аргінази. Рівні цих біологічно активних речовин наблизились до таких в КГ (iNOS в контрольній групі становив $1,2 \pm 0,17$ мкмоль/хв./1г білка, а в ОГ-II $1,50 \pm 0,22$ мкмоль/хв./1г білка; $P > 0,2$).

Активність аргінази була $2,20 \pm 0,2$ мкмоль/хв./1г білка та $2,1 \pm 0,23$ мкмоль/хв./1г білка відповідно; ($P > 0,5$).

Виявлені достовірні кореляції між активністю iNOS, з одного боку, і рівнем в цервікальному слизі TNF- α ($r=0,77$; $P_{0,001}$) та INF- γ ($r=0,55$; $P_{0,01}$), з другого боку. Знайдена позитивна кореляція між зниженням рівня IL-10 та падінням активності аргінази в цер-

вікальному слизі ($r=0,56$; $P0,02$), а також негативна кореляція між збільшенням активності iNOS та зменшенням активності аргінази ($r=-0,43$; $P0,05$).

Можна заключити, що у вагітних з високим ризиком виникнення преєклампсії має місце домінування прозапальних цитокінів TNF- α та INF- γ із падінням рівня протизапального цитокіну IL-10, що спричиняє дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, зі збільшенням активності iNOS при зниженні активності аргінази.

Такі порушення балансу цитокінів та співвідношення активності iNOS та аргінази, вірогідно, призводять до зниження здатності трофобластів до їх повноцінної інвазії в спіральні артерії матки [3, 4, 9, 10, 23, 26].

Проведений курс профілактичного лікування дозволив наблизити рівні вивчених про- і протизапальних цитокінів, а також співвідношення активності iNOS і аргінази в слизі цервікального каналу у вагітних з підвищеним ризиком виникнення преєклампсії до показників, притаманних здоровим вагітним. Клінічно профілактичне лікування дозволило в півтора рази знизити частоту виникнення преєклампсії і в 1,8 рази зменшити перинатальну смертність.

Література:

1. Hypertension in pregnancy: diagnosis and management NICE guideline [Internet]. National Institute for Health and Care Excellence; 2019 [updated 2023 April 17; cited 2023 Sep 10]. Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng133>
2. Лахно ІВ. Сучасні можливості прогнозування та профілактики преєклампсії. Медичні аспекти здоров'я жінки. 2021;137(2):17-9. Доступно: <https://mazg.com.ua/ua/archive/2021/2%28137%29/pages-17-19/suchasni-mozhливosti-prognozuvannya-ta-profilaktiki-preeklampsiyi>
3. Monari F, Menichini D, Pignatti L, Basile L, Facchinetti F, Neri I. Effect of L-arginine supplementation in pregnant women with chronic hypertension and previous placenta vascular disorders receiving Aspirin prophylaxis: a randomized control trial. Minerva Obstet Gynecol. 2021;73(6):782-9. DOI: <http://doi.org/10.23736/S2724-606X.21.04827-2> PMID: 33978350.
4. Konkov DG, Piskun AO, Taran OA, Kostur GV. Specialties of hystomorphometrical changes in placenta of women with early and late preeclampsia. Wiad Lek. 2020;73(1):151-5. PMID: 32124826.
5. Barrientos G, Pussetto M, Rose M, Staff AC, Blois SM, Toblli JE. Defective trophoblast invasion underlies fetal growth restriction and preeclampsia-like symptoms in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. Mol Hum Reprod. 2017;23(7):509-19. DOI: <http://doi.org/10.1093/molehr/gax024> PMID: 28402512.
6. Likhachov V, Taranovska O. Changes in cytokine balance in pregnant women with chronic endometritis in the past medical history and their role in the development of preeclampsia. Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine. 2023;13(4):111-6. DOI: <http://doi.org/10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.16>
7. Likhachov V, Vashchenko V, Taranovska O, Dobrovolska L, Makarov O. Changes in cell-mediated and humoral immunity indices and levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in cervical mucus in pregnant women of high risk for preeclampsia. World of Medicine and Biology. 2021.2 (76):79-83. DOI: <http://doi.org/10.26724/2079-8334-2021-2-76-79-83>
8. Alijotas-Reig J, Llurba E, Gris JM. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. Placenta. 2014; 35(4):241-8. doi: <http://doi.org/10.1016/j.placenta.2014.02.004> PMID: 24581729.
9. Alijotas-Reig J, Esteve-Valverde E, Ferrer-Oliveras R, Llurba E, Gris JM. Tumor Necrosis Factor-Alpha and Pregnancy: Focus on Biologics. An Updated and Comprehensive Review. Clin Rev Allergy Immunol. 2017;53(1):40-53. DOI: <http://doi.org/10.1007/s12016-016-8596-x> PMID: 28054230.
10. Kaislasuo J, Simpson S, Petersen JF, Peng G, Aldo P, Lokkegaard E, et al. IL-10 to TNF α ratios throughout early first trimester can discriminate healthy pregnancies from pregnancy losses. Am J Reprod Immunol. 2020;83(1): e13195. DOI: <http://doi.org/10.1111/aji.13195> PMID: 31585488; PMCID: PMC8295882.
11. 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):70-75. DOI: <http://doi.org/10.15407/ubj88.06.070>
12. Pinto-Souza CC, Coeli-Lacchini F, Luizon MR, Cavalli RC, Lacchini R, Sandrim VC. Effects of arginase genetic polymorphisms on nitric oxide formation in healthy pregnancy and in preeclampsia. Nitric Oxide. 2021;109-110:20-5. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.niox.2021.02.003> PMID: 33676021.
13. Skrypnik I, Maslova G, Lymanets T, Gusachenko I. L-arginine is an effective medication for prevention of endothelial dysfunction, a predictor of antihypertensive cardiotoxicity in patients with acute leukemia. Exp Oncol. 2017;39(4):308-11. PMID: 29284775.
14. Xu L, Wang X, Wang C, Li W, Liu H. L-arginine supplementation improved neonatal outcomes in pregnancies with hypertensive disorder or intrauterine growth restriction: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Clin Nutr. 2022;41(7):1512-22. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.clnu.2022.05.014> PMID: 35667267.
15. Shynkevych VI, Kolomiets SV, Kaidashev IP. Effects of l-arginine and l-ornithine supplementations on the treatment of chronic periodontitis: A preliminary randomized short-term clinical trial. Heliyon. 2021 Nov 9;7(11): e08353. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08353> PMID: 34816043; PMCID: PMC8593455.
16. Eddy AC, Howell JA, Chapman H, Taylor E, Mahdi F, George EM, et al. Biopolymer-delivered, maternally sequestered NF- κ B (Nuclear Factor- κ B) inhibitory peptide for treatment of preeclampsia. Hypertension. 2020;75(1):193-201. DOI: <http://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.13368> PMID: 31786977; PMCID: PMC7008946.

Висновки

1. У жінок з підвищеним ризиком преєклампсії в 28-34 тижні вагітності в цервікальному слизі зростають рівні прозапальних цитокінів (INF- γ в 1,25 рази та TNF- α в 2,1 рази) при зниженні концентрації протизапального цитокіну IL-10 в 1,6 рази.

2. У вагітних, які не отримували профілактичного лікування, знайдено підвищення активності індукційної NO-синтази в цервікальному слизі в 2,3 рази, а активність аргінази зменшилась в 1,7 рази.

3. У жінок ОГ-II, які приймали курс профілактичного лікування, порівняно з ОГ-I відбулось зменшення рівнів прозапальних цитокінів в цервікальному слизі: INF- γ – в 1,2 рази, TNF- α – в 1,8 рази. Вміст протизапального цитокіну IL-10 при цьому зростав в 1,5 рази.

4. Застосування профілактичної терапії знизило активність iNOS в цервікальному слизі в 1,9 рази, а активність аргінази зросла в 1,6 рази.

5. Клінічно профілактичне лікування дозволило знизити частоту виникнення преєклампсії в півтора рази і в 1,8 рази зменшити перинатальну смертність.

17. Brownfoot FC, Hastie R, Hannan NJ, Cannon P, Nguyen TV, Tuohey L, et al. Combining metformin and sulfasalazine additively reduces the secretion of antiangiogenic factors from the placenta: Implications for the treatment of preeclampsia. *Placenta*. 2020; 95:78-83. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.04.010> PMID: 32452405.
18. Tong S, Kaitu'u-Lino TJ, Hastie R, Brownfoot F, Cluver C, Hannan N, et al. Pravastatin, proton-pump inhibitors, metformin, micronutrients, and biologics: new horizons for the prevention or treatment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2022;226(2S):1157-70. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.09.014> PMID: 32946849.
19. Aguilar-Cordero MJ, Lasserrot-Cuadrado A, Mur-Villar N, Leon-Rios XA, Rivero-Blanco T, Perez-Castillo IM. Vitamin D, preeclampsia and prematurity: A systematic review and meta-analysis of observational and interventional studies. *Midwifery*. 2020; 87:102707. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.midw.2020.102707> PMID: 32438283.
20. Mansur JL, Oliveri B, Giacoia E, Fusaro D, Costanzo PR. Vitamin D: Before, during and after Pregnancy: Effect on Neonates and Children. *Nutrients*. 2022;14(9):1900. DOI: <http://doi.org/10.3390/nu14091900> PMID: 35565867; PMCID: PMC9105305.
21. Wang H, Zhang F, Li B, Fu M, Shan X, Ma Y. Three-stage pattern of rapid increase, plateau, and subsequent decline in vitamin D concentration during pregnancy among Chinese women: a large-scale survey. *Front Nutr*. 2023;10:1238389. DOI: <http://doi.org/10.3389/fnut.2023.1238389> PMID: 37908304; PMCID: PMC10613652.
22. Liang S, Cai J, Li Y, Yang R. 1,25DihydroxyVitamin D3 induces macrophage polarization to M2 by upregulating Tcell Ig mucin3 expression. *Mol Med Rep*. 2019;19(5):3707-13. DOI: <http://doi.org/10.3892/mmr.2019.10047> PMID: 30896850; PMCID: PMC6472136.
23. Evans KN, Nguyen L, Chan J, Innes BA, Bulmer JN, Kilby MD, Hewison M. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on cytokine production by human decidual cells. *Biol Reprod*. 2006;75(6):816-22. DOI: <http://doi.org/10.1095/biolreprod.106.054056> PMID: 16957024.
24. Chekalina NI, Kazakov YM, Mamontova TV, Vesnina LE, Kaidashev IP. Resveratrol more effectively than quercetin reduces endothelium degeneration and level of necrosis factor α in patients with coronary artery disease. *Wiad Lek*. 2016;69(3 pt 2):475-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27717928/> PMID: 28478409.
25. Акімов ОЕ, Костенко ВО, винахідники; Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», патентовласник. Спосіб визначення загальної аргіназної активності в гомогенаті м'яких тканин. Патент на корисну модель № 111874. 2016 Лис 25.
26. Azizieh FY, Raghupathy R. IL-10 and pregnancy complications. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2017;44(2):252-258. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29746033/> PMID: 29746033.

THE IMPACT OF PREVENTIVE TREATMENT IN PREGNANT WOMEN AT HIGH RISK OF PREECLAMPSIA ON THE IMBALANCE OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES, INOS, AND ARGINASE ACTIVITY

V. Vashchenko

Poltava State Medical University
(Poltava, Ukraine)

Summary.

Preeclampsia complicates 7-10% of pregnancies and ranks as the third to fourth leading cause of maternal mortality. An imbalance in cytokine production, characterized by a predominance of pro-inflammatory cytokines, leads to systemic endothelial dysfunction. This dysfunction results in inadequate trophoblast invasion into the spiral arteries of the uterus, contributing to various gestational complications.

Aim: To investigate the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines, as well as the activity of inducible NO synthase (iNOS) and arginase, in the cervical mucus of pregnant women at high risk of preeclampsia. Additionally, to evaluate the effectiveness of preventive treatment in restoring cytokine balance and normalizing nitric oxide metabolism.

Materials and methods: The study included 110 pregnant women, divided into a control group (CG) of 28 healthy pregnant women and a main group (MG) of 82 women at high risk of preeclampsia. The high-risk status was determined based on anamnestic factors and reduced blood flow in the placental spiral arteries at 18-20+6 weeks of gestation. Within the main group, 33 women did not receive advanced secondary prevention (MG-I), while 49 women (MG-II) were treated with metformin, vitamin D3, and quercetin with povidone. Cervical mucus samples were collected using a sterile brush, suspended in 2 mL of 0.2 M Tris-buffered solution (pH = 7.4), and stored frozen. Levels of pro- and anti-inflammatory cytokines (IFN- γ , TNF- α , IL-10) were measured using standard commercial reagent kits. iNOS activity was determined by subtracting constitutive NO synthase (cNOS) activity from total NO synthase activity. Arginase activity was assessed by measuring the difference in L-ornithine concentrations before and after incubation at 37.0 °C. Results were expressed in $\mu\text{mol}/\text{min}$ per 1 g of cervical mucus protein. The study adhered to biomedical ethics guidelines. Statistical analysis was performed using the «STATISTICA» software («StatSoft Inc.» USA), including calculation of mean values (M), variance (σ), standard errors (m), and Student's t-test. This study is part of an initiative research project conducted by the Department of Obstetrics and Gynecology No. 2 at Poltava State Medical University, titled «Optimization of Approaches to Pregnancy Management in Women at High Risk of Obstetric and Perinatal Pathology» (State Registration No. 0122U201228, implementation period 2022-2027).

Results and Discussion: In the high-risk group without preventive treatment (MG-I), elevated levels of pro-inflammatory cytokines and reduced levels of the anti-inflammatory cytokine IL-10 were observed in cervical mucus. iNOS activity was significantly increased, while arginase activity was decreased compared to the control group. Significant correlations were identified between iNOS activity and the levels of TNF- α ($r = 0.77$; $P < 0.001$) and IFN- γ ($r = 0.55$; $P < 0.01$). A positive correlation was found between decreased IL-10 levels and reduced arginase activity ($r = 0.56$; $P < 0.02$), while a negative correlation was observed between increased iNOS activity and decreased arginase activity ($r = -0.43$; $P < 0.05$). In the treatment group (MG-II), preventive therapy reduced pro-inflammatory cytokine levels: IFN- γ decreased by 1.2 times and TNF- α by 1.8 times compared to MG-I. Conversely, IL-10 levels increased by 1.5 times. iNOS activity decreased by 1.9 times, while arginase activity increased by 1.6 times. Clinically, preventive treatment reduced the incidence of preeclampsia by 1.5 times and perinatal mortality by 1.8 times.

Conclusions: Pregnant women at high risk of preeclampsia who did not receive preventive treatment exhibited elevated levels of pro-inflammatory cytokines (IFN- γ and TNF- α) and reduced levels of the anti-inflammatory cytokine IL-10 in cervical mucus at

28-34 weeks of gestation. Additionally, iNOS activity was increased, while arginase activity was decreased. In contrast, women who underwent preventive treatment (MG-II) demonstrated reduced pro-inflammatory cytokine levels, increased IL-10 levels, decreased iNOS activity, and increased arginase activity. Clinically, preventive treatment reduced the incidence of preeclampsia by 1.5 times and perinatal mortality by 1.8 times.

Key words: Pro-Inflammatory Cytokines; Anti-Inflammatory Cytokines; NO Synthase; Arginase; Metformin; Vitamin D3; Quercetin.

Контактна інформація:

Ващенко Вікторія Леонідівна – доктор філософії, доцент кафедри акушерства і гінекології № 2 Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна).

e-mail: vlvashchenko@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6897-6339>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=57205712938>

Researcher ID: <https://www.researchrid.com/rid/ABD-4253-2020>

Contact Information:

Victoria Vashchenko – PhD, Docent, Associate Professor Department of Obstetrics and Gynecology № 2 Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

e-mail: vlvashchenko@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6897-6339>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=57205712938>

Researcher ID: <https://www.researchrid.com/rid/ABD-4253-2020>



Надійшло до редакції 27.01.2025 р.
Підписано до друку 20.03.2025 р.