

АКТИВНІСТЬ p65-СУБОДИНИЦІ ЯДЕРНОГО ЧИННИКА NF-KB ТА СПІВВІДНОШЕННЯ T-ХЕЛПЕРІВ I ТА II ТИПУ У ВАГІТНИХ ІЗ ПЛАЦЕНТАРНИМИ ПОРУШЕННЯМИ Й ПЕРЕДЧАСНОЮ ПОЛОГОВОЮ ДІЯЛЬНІСТЮ

ВСТУП

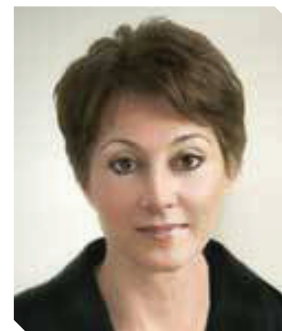
Плацентарні порушення (раніше – плацентарна дисфункція) – це тяжкий синдром, який виникає при вагітності, у його основі лежить прогресивне погіршення функції плаценти, що призводить до зниження трансплацентарного надходження кисню і поживних речовин до плода [1, 2]. Гіпоксія плода, що виникає внаслідок цього, спричиняє розвиток іншого акушерського синдрому – затримки росту плода (ЗРП), оскільки фетоплацентарний комплекс намагається пристосуватися до зниженої можливості задоволення метаболічних потреб плода [3]. Зі свого боку ЗРП є другою причиною перинатальної смерті після недоношеності, підвищує ризики внутрішньоутробної смерті, неонатальної захворюваності та неонатальної смерті [2]. Окрім розвитку ЗРП, плацентарні порушення можуть призводити до таких ускладнень вагітності, як преєклампсія і передчасні пологи [4], які можуть погіршувати перинатальні показники та здоров'я нації загалом [5]. Особливо це стосується передчасних пологів (народження плода до повного 37-го тижня гестації) – основної причини захворюваності та смертності новонароджених у всьому світі: щорічно близько 15 млн немовлят народжуються передчасно і понад мільйон із них помирає в перші дні життя [6]. Ті ж малюки, які змогли пережити недоношеність, часто мають серйозні проблеми зі здоров'ям, а саме: захворювання легень, втрата зору, розлади з боку нервової системи, а також віддалені наслідки в дорослому житті – цукровий діабет II типу, ішемічна хвороба серця, інсульт [7, 8]. Причини та механізми розвитку спонтанних передчасних пологів залишаються недостатньо вивченими, а тому постійно досліджуються світовою науковою спільнотою з метою покращення ведення жінок із зазначеними ускладненнями.

Роль запалення в розвитку передчасної пологової діяльності важко переоцінити. Незліченна кількість робіт присвячена вивченню запальних процесів при передчасних і термінових пологах, оскільки самі пологи

є станом підвищеної асептичної запальної активності організму [9–12]. Тому логічним висновком є те, що будь-яка подія, яка викликає запальну відповідь в організмі жінки під час вагітності, може слугувати тригером до запуску передчасної пологової діяльності. Головна роль при цьому належить імунній системі та її адекватному реагуванню на зміни в жіночому організмі при настанні вагітності, оскільки плід – це напівчужорідна для материнського організму істота, яка, однак, потребує підтримання умов для свого успішного росту й розвитку, толерантності організму, а також його пристосування до потреб майбутньої дитини [13, 14]. У фізіологічних умовах толерантність імунітету досягається шляхом перемикання імунної системи на менш реактивний тип відповіді через більшу, ніж у невагітному стані, продукцію протизапальних цитокінів, що забезпечується T-хелперами 2-го типу (Th2), на відміну від прозапальних лімфоцитів, які виробляються T-хелперами 1-го типу (Th1) [15].

Одним із факторів, який може впливати на підтримання кількості Th2, є інтактність ядерного транскрипційного чинника NF-kB. Він є досить складним комплексом білків, що включає в себе 5 основних субодиниць, кожна з яких має унікальні властивості, шляхи активації, а також дію на організм при підвищенні своєї біологічної активності внаслідок тих чи інших стимулів. Субодиниця p-65 NF-kB, або RelA, є одним із чинників, який ініціює перемикання відповіді T-хелперів із підтримання протизапального, дружнього для вагітності середовища на прозапальне, що провокує активацію імунної системи та пов'язаний із цим розвиток передчасних пологів [16]. Активність p-65 NF-kB може бути підвищеною при розвитку плацентарних порушень у жінок.

Мета дослідження: дослідити й порівняти кількість p-65-субодиниці NF-kB при плацентарних порушеннях і фізіологічних пологах, а також визначити наявність зв'язку між активністю цього білка та співвідношенням Th1/Th2.



І.Б. ВЕНЦКІВСЬКА

д. мед. н., професорка кафедри акушерства і гінекології № 1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, м. Київ
ORCID: 0000-0002-7685-5289

В.І. КУПЧІК

аспірантка кафедри акушерства і гінекології № 1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, м. Київ
ORCID: 0000-0002-4394-260X

Контакти:

Купчик Владислава Ігорівна
НМУ ім. О.О. Богомольця,
кафедра акушерства
і гінекології № 1

01601, Київ, бул. Т. Шевченка, 13
Тел.: +38 (063) 048-49-21
Email: elanie92@gmail.com

DOI: <http://dx.doi.org/10.18370/2309-4117.2023.67.79-83>

ВАГІТНІСТЬ ТА ПОЛОГИ

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження типу «випадок-контроль» проводили протягом 2019-2022 рр. на клінічній базі кафедри акушерства і гінекології № 1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця – КНП «Перинатальний центр м. Києва». До нього були залучені вагітні, які спостерігались у жіночій консультації і в яких під час першого та другого скринінгу вагітності за даними біохімічного й ультразвукового досліджень був встановлений діагноз плацентарних порушень, а згодом розвинулася передчасна пологова діяльність у терміні 24–34 тижні.

Вагітні були розподілені на дві групи.

- I група – 20 жінок із передчасними пологами та своєчасним відходженням вод;
- II група – 20 жінок із передчасним розривом плодових оболонок (ПРПО).

До групи контролю (ГК) увійшли 20 жінок із фізіологічним перебігом вагітності та нормальними терміновими пологами в головному передлежанні плода без ускладнень.

Для усунення впливу додаткових чинників на результати дослідження з нього виключали жінок, вагітність яких настала завдяки використанню допоміжних репродуктивних технологій, із розвитком гестозу II половини вагітності, тяжкою супутньою патологією.

Визначення загального та фосфорильованого p65 NF-kB проводили шляхом використання імуноферментного «сендвіч»-методу ELISA (імуноферментного аналізу) у лізатах плацент, отриманих після пологів. Для виготовлення лізатів свіжу плацентарну тканину розрізали на дрібні шматочки та лізували за допомогою трис-лізисного буфера. Лізати центрифугували для очищення від домішків і надалі використовували набори RayBio® Phospho-NF-kB P65 (Ser536) і Total NF-kB P65 ELISA kit.

Задля проведення проточної цитофлуориметрії цільну кров (200 мкл) вносили піпеткою безпосередньо до пробірки для сортування клітин, що містила 20 мкл моноклональних антитіл до поверхневого антигена Т-хелпера CD4 (CD4-PerCP, Becton Dickinson, Сан-Дієго, Каліфорнія), та інкубували за кімнатної температури в темряві впродовж 10 хв. Потім проводили стабілізацію, лізис еритроцитів лізувальним розчином, центрифугування із забором надосадової рідини. Відтак до клітин додавали цитокін-специфічні антитіла (IFN γ -FITC, IL-4-PE, Becton Dickinson) та інкубували протягом 30 хв за кімнатної температури в темряві. Після промивання клітини заливали 1% параформальдегідом (500 мкл) і зберігали при 4°C до аналізу проточною цитометрією. CD4+IFN γ + (інтерферон γ) клітини визначались як Th1, CD4+IL-4+ (інтерлейкін 4-го типу) – як Th2.

Статистичну обробку проводили за допомогою програм MedStat v.5.2 та EZR v.3.4.1. Спочатку виконували аналіз нормальності розподілу отриманих даних із використанням критерію Шапіро – Вілка, далі послуговувалися методом множинних порівнянь Шеффе для встановлення вірогідної різниці. Результати вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Ця робота виконана з дотриманням чинних біоетичних норм проведення клінічних досліджень і погоджена Біоетичною комісією НМУ ім. О.О. Богомольця (протокол № 127 від 02.12.2019).

Усі жінки були проінформовані про зміст, хід і мету дослідження та надали письмову згоду на участь у ньому.

РЕЗУЛЬТАТИ

При аналізі віку обстежуваних статистичної різниці не виявлено (рис. 1). У групі I він становив $26,8 \pm 4,3$ року, у групі II – $26,7 \pm 4,9$ року, у контрольній групі – $24,8 \pm 4,1$ року ($p = 0,267$).

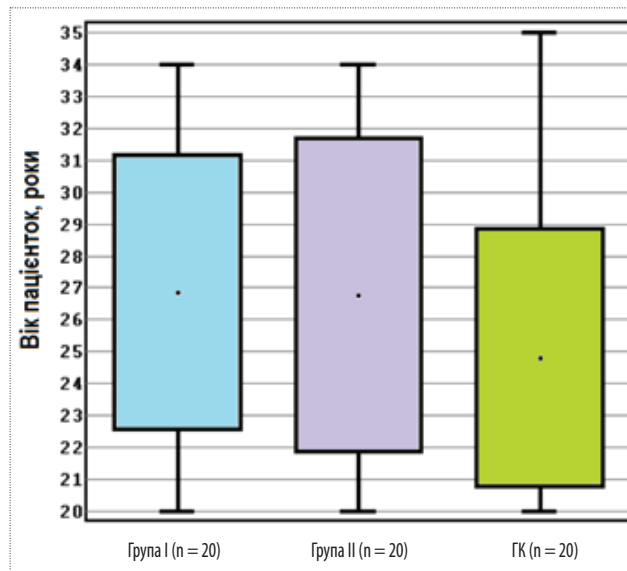


Рисунок 1. Розподіл пацієнток за віком (n = 60)

Цікаві дані отримано в результаті дослідження кількостей та активності p65 NF-kB (табл. 1). У групах I і II була знайдена достовірна різниця між кількостями загального та фосфорильованого p65 NF-kB порівняно з ГК. Цікаво, що між групами I і II також виявлена вірогідна різниця показників ($p < 0,01$): найвищі значення всіх трьох досліджуваних параметрів спостерігались у групі I. Також при дослідженні активності p65 NF-kB рівень значущості відмінностей від ГК був дещо нижчим для групи II – $p = 0,04$. Графічно дані зображено на рисунку 2.

Результати дослідження кількісного вмісту Th1 і Th2 у крові пацієнток та їхнє співвідношення представлено в таблиці 2, а графічно відображено на рисунку 3. У групах I та II виявлена достовірна різниця концентрації Th1, причому достовірність різниці мала певну аналогію з результатами дослідження концентрацій і активності p65 NF-kB: найвищі значення спостерігались у групі I ($p < 0,01$), а достовірність різниці у жінок групи II порівняно з ГК становила $p = 0,03$.

Таблиця 1. Кількісний склад загального p65 NF-kB (p65 NF-kB_{tot}), фосфорильованого p65 NF-kB (p65 NF-kB_{phos}), ступінь активності (p65 NF-kB_{phos}/p65 NF-kB_{tot})

Показник	Група I (n = 20)	Група II (n = 20)	ГК (n = 20)
p65 NF-kB _{tot} , пг/мл	70,4 ± 4,0*	61,4 ± 3,9*	51,7 ± 3,4
p65 NF-kB _{phos} , пг/мл	41,6 ± 2,9*	19,8 ± 1,7*	15,3 ± 1,1
p65 NF-kB _{phos} /p65 NF-kB _{tot} , %	59,1 ± 3,5*	32,2 ± 2,1**	30,1 ± 1,5

* $p < 0,01$ порівняно з ГК

** $p = 0,04$ порівняно з ГК

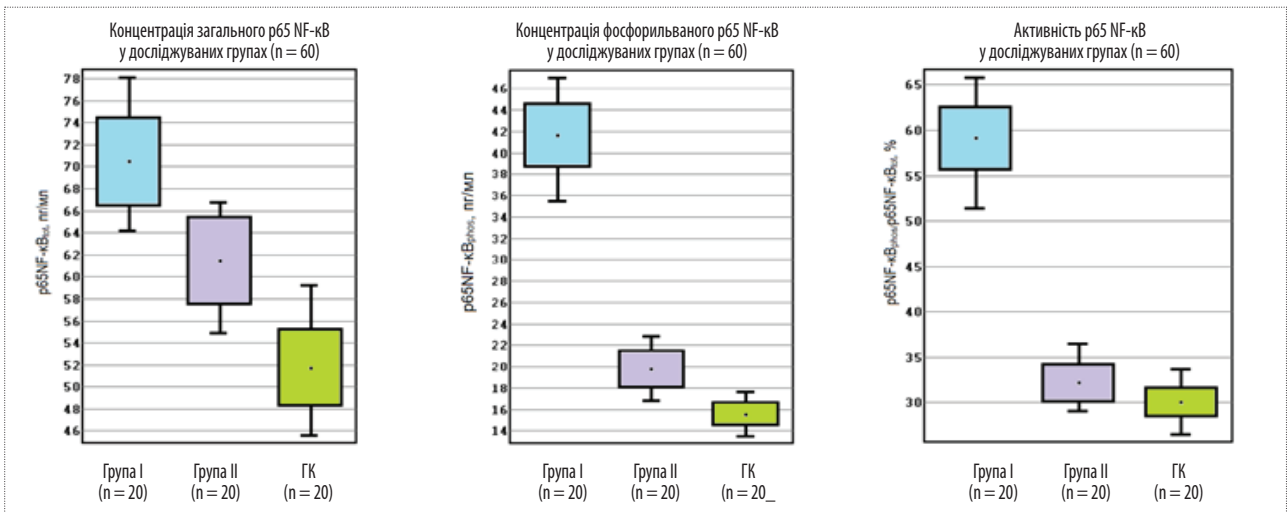


Рисунок 2. Концентрації загального, фосфорильованого p65 NF-kB та його активність

Цікаво, що ця закономірність не поширювалася на показник кількості Th2, оскільки достовірної різниці у групі II із ГК знайдено не було ($p = 0,65$). Але найбільш показовим виявилось співвідношення Th обох типів: достовірна різниця ($p < 0,01$) порівняно з ГК спостерігалась як у I, так і у II групі.

Результати дослідження кількісного вмісту Th1 і Th2 у крові пацієнок та їхнє співвідношення представлено в таблиці 2, а графічно відображено на рисунку 3. У групах I та II виявлена достовірна різниця концентрації Th1, причому

достовірність різниці мала певну аналогію з результатами дослідження концентрацій і активності p65 NF-kB: найвищі значення спостерігались у групі I ($p < 0,01$), а достовірність різниці у жінок групи II порівняно з ГК становила $p = 0,03$. Цікаво, що ця закономірність не поширювалася на показник кількості Th2, оскільки достовірної різниці у групі II із ГК знайдено не було ($p = 0,65$). Але найбільш показовим виявилось співвідношення Th обох типів: достовірна різниця ($p < 0,01$) порівняно з ГК спостерігалась як у I, так і у II групі.

При визначенні зв'язку між активністю p65-субодиниці NF-kB та співвідношенням двох типів Т-хелперів (Th1/Th2) (рис. 4) встановлено сильний позитивний кореляційний зв'язок ($r = 0,882$, 95% довірчий інтервал 0,81–0,928).

Таблиця 2. Кількісний склад Th1, Th2 та їхнє співвідношення (Th1/Th2)

Показник	Група I (n = 20)	Група II (n = 20)	ГК (n = 20)
Th1, %	31,9 ± 2,6*	24,9 ± 2,4**	22,9 ± 2,4
Th2, %	23,3 ± 2,2*	19,9 ± 1,9	19,3 ± 2,1
Th1/Th2, %	1,37 ± 0,03*	1,25 ± 0,04*	1,18 ± 0,02

* $p < 0,01$ порівняно з ГК
 ** $p = 0,03$ порівняно з ГК

ОБГОВОРЕННЯ

Під час дослідження було встановлено підвищену активність p65 NF-kB у пацієнок із плацентарними порушеннями. Цей білок відповідає за запальну та імунну відповідь в організмі, доказом чого слугує знайдений зв'язок із кількістю Th1

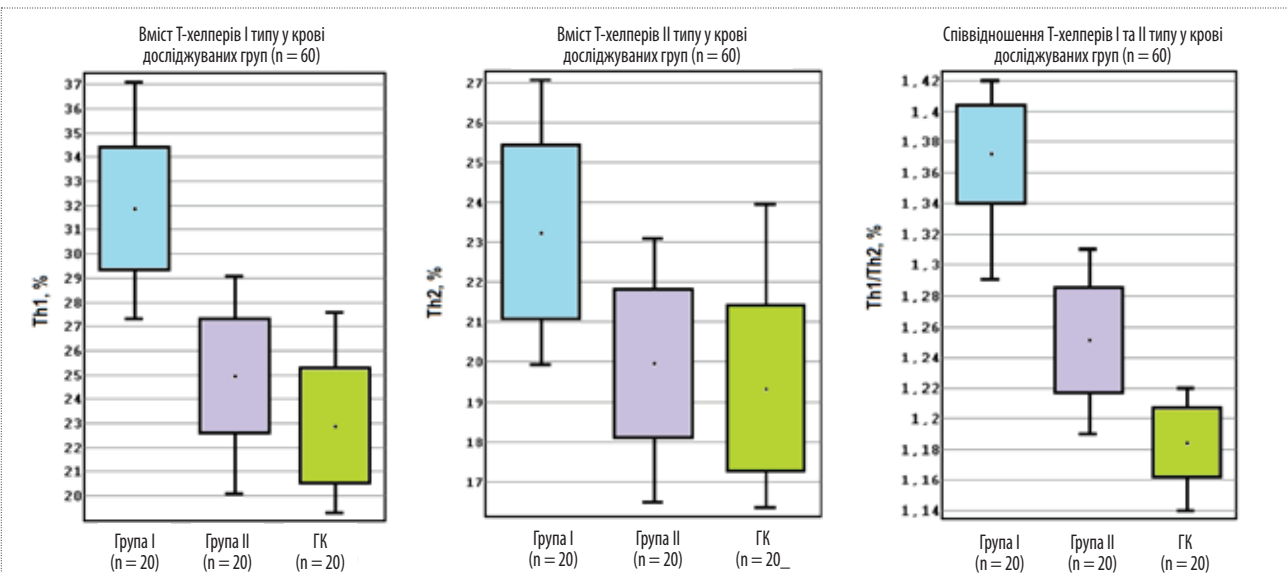


Рисунок 3. Концентрація Th1, Th2 у крові пацієнок та їхнє співвідношення (Th1/Th2)

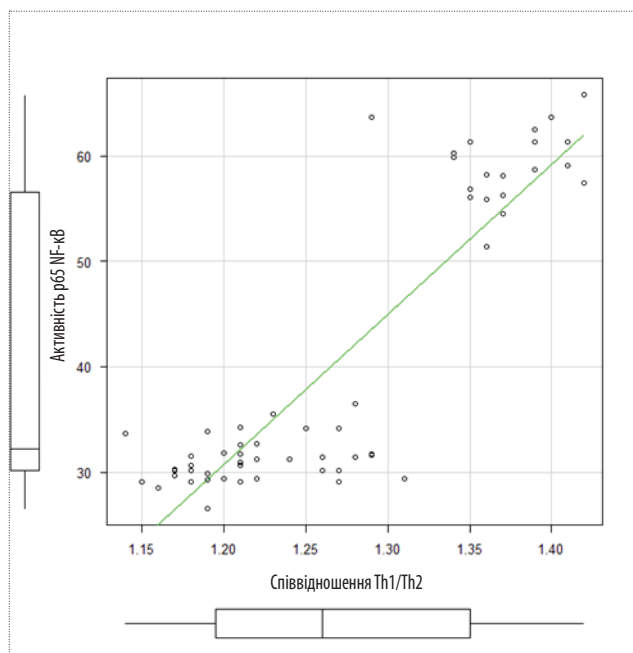


Рисунок 4. Кореляційний аналіз активності p65 NF-kB із співвідношенням Th1/Th2 у пацієнток досліджуваних груп (n = 60)

і Th2 та співвідношенням Th1/Th2 у пацієнток із підвищеною активністю p65 NF-kB.

Загальновідомо, що вагітність – стан помірної імуносупресії матері, оскільки необхідно створити умови толерантності материнського організму до плода, який є наполовину алогенним для жінки [14, 17]. Переважання в імунній системі Th2 під час вагітності захищає фетоплацентарну одиницю від атаки біологічно активними речовинами, що починають вироблятися при перемиканні домінантного типу Т-хелперів на тип I [18]. На ранніх термінах вагітності помірні процеси запалення, зокрема імунного походження, мають позитивний ефект та полегшують перебіг імплантації шляхом деякого підвищення продукції прозапальних цитокінів (γ-інтерферону, інтерлейкіну 12-го типу, чинника некрозу пухлин α тощо). Але після закріплення плідного яйця в децидуальній оболонці дуже швидко відбувається зміна домінанти імунної відповіді на Th2, і надалі при фізіологічній вагітності подібний стан триватиме аж до пологів. Існують дані, що при персистенції домінанти Th1 над Th2 зростає ризик самовільного викидня і навіть звичного невиношування в жінок, плоди яких не демонстрували генетичних чи будь-яких інших аномалій розвитку [19]. Підтвердженням цих даних є виявлені в нашому дослідженні зміни, за яких у ГК також було зафіксовано переважання Th1 над Th2, що може бути логічним наслідком пологів, які відбулися, оскільки фізіологічні пологи супроводжуються помірним збільшенням запалення в материнському організмі. Але, незважаючи на можливий вплив самих пологів на зміну співвідношення Т-хелперів, в обох групах пацієнток із передчасними пологами на тлі наявних плацентарних порушень спостерігалася достовірна різниця в показниках кількості Th1 і співвідношення Th1/Th2, особливо у групі без ПРПО.

Ядерний чинник kB (NF-kB) відіграє центральну роль у виникненні запалення та посиленні імунної відповіді, оскільки

його субодиниці здатні проходити через ядерну мембрану та індукувати транскрипцію прозапальних генів [20]. За відсутності стимулювальних впливів NF-kB перебуває в неактивному стані, зазвичай у комплексі з інгібіторними білками IκB, що зумовлює занадто великі його розміри для проходження через оболонку ядра, як уже було відображено в попередніх наших роботах [21]. Але при активації ядерного чинника відбувається відщеплення інгібіторної молекули, переміщення частини чинника транскрипції всередину ядра та підвищення експресії різних видів білків (залежно від субодиниці NF-kB, що була активована) [22]. До цього часу проводились дослідження взаємозв'язку здебільшого кількості цитокінів у різних рідинах організму із активністю p65-субодиниці NF-kB, які засвідчили підвищення продукції прозапальних лімфокінів за наявності активованої p65 NF-kB [23–25].

У нашому дослідженні продемонстровано наявність сильного кореляційного зв'язку між збільшенням співвідношення Th1/Th2 та підвищенням активності p65 NF-kB, причому було доведено переважний вплив на Th1, оскільки кількість Th2 при статистичній обробці мала нижчі рівні значущості знайдених відмінностей.

Також заслуговує на увагу той факт, що виявлені в нашому дослідженні зміни були не такими характерними для групи жінок із ПРПО при плацентарних порушеннях. Це може пояснюватися існуванням іншого, не пов'язаного з NF-kB, провідного механізму при цьому клінічному варіанті перебігу передчасних пологів і потребує подальших досліджень для встановлення патогенезу розвитку ПРПО при дисфункції плаценти.

ВИСНОВКИ

Результати дослідження свідчать, що для плацентарних порушень з розвитком передчасних пологів характерним є підвищення загальної, фосфорильованої p65-субодиниці ядерного чинника NF-kB і відповідно її активності у клітинах плаценти, але ступінь зміни цих показників різниться залежно від клінічного перебігу передчасних пологів: вищі концентрації загального й активованого p65 характерні для вагітних без розвитку ПРПО. При цьому встановлено сильний позитивний кореляційний зв'язок активності p-65 NF-kB із кількістю саме Т-хелперів 1 типу, які створюють передумови для прозапального середовища материнського організму, і відповідно із співвідношенням Th1/Th2, що свідчить про провідну роль імунної запальної відповіді в розвитку передчасних пологів без ПРПО при плацентарних порушеннях. З огляду на нижчу достовірність різниці з ГК у вагітних з розвитком передчасних пологів із попереднім ПРПО, можна говорити про потенційну наявність іншого провідного механізму розвитку вказаних ускладнень вагітності в жінок із плацентарними порушеннями.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wardinger, J.E., Ambati, S. Placental Insufficiency. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan.
2. Leush, S.S., Zagorodnyaya, A.S., Vitovsky, Y.M., Protsik, M.V. "Fetal-maternal gas transport in preterm birth." *Reproductive health. Eastern Europe* 11.6 (2021): 722–9.
3. Leush, S.S. Плодово-материнський газовий транспорт при преждевременных родах. / С.С. Леуш, А.С. Загородная, Я.М. Витовский, М.В. Процик // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2021. – Т.11, № 6. – С. 722–729.
4. Malhotra, A., Allison, B.J., Castillo-Melendez, M., et al. "Neonatal Morbidities of Fetal Growth Restriction: Pathophysiology and Impact." *Front Endocrinol (Lausanne)* 10 (2019): 55.
5. Fantasia, I., Bussolaro, S., Stampalija, T., Rolnik, D.L. "The role of melatonin in pregnancies complicated by placental insufficiency: A systematic review." *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 278 (2022): 22–8.
6. Frolova, T.V., Lazurenko, V.V., Pasyeshvili, N.M., et al. "Placental dysfunction: health status, nutritional status and mineral profile of a mother-child pair." *Wiad Lek* 73.1 (2020): 95–8.
7. Lien, Y.C., Zhang, Z., Cheng, Y., et al. "Human Placental Transcriptome Reveals Critical Alterations in Inflammation and Energy Metabolism with Fetal Sex Differences in Spontaneous Preterm Birth." *Int J Mol Sci* 22.15 (2020): 7899.
8. Armengaud, J.B., Zyzdorczyk, C., Siddeek, B., et al. "Intrauterine growth restriction: Clinical consequences on health and disease at adulthood." *Reprod Toxicol* 99 (2021): 168–76.
9. Darby, J.R.T., Varcoe, T.J., Orgeig, S., Morrison, J.L. "Cardiorespiratory consequences of intrauterine growth restriction: Influence of timing, severity and duration of hypoxaemia." *Theriogenology* 150 (2020): 84–95.
10. Green, E.S., Arck, P.C. "Pathogenesis of preterm birth: bidirectional inflammation in mother and fetus." *Semin Immunopathol* 42.4 (2020): 413–29.
11. Gomez-Lopez, N., Galaz, J., Miller, D. "The immunobiology of preterm labor and birth: intra-amniotic inflammation or breakdown of maternal-fetal homeostasis." *Reproduction* 164.2 (2022): R11–R45.
12. Muñoz-Pérez, V.M., Ortiz, M.I., Cariño-Cortés, R., et al. "Preterm Birth, Inflammation and Infection: New Alternative Strategies for their Prevention." *Curr Pharm Biotechnol* 20.5 (2019): 354–65.
13. Bila, V., Zahorodnia, O., Tsapenko, T., Tymoschuk, K. "Glucose Concentration in Amniotic Fluid as a Marker of Amniotic Membrane Inflammation in Premature Rupture in Preterm and Term Pregnancies." *Reproductive health. Eastern Europe* 11.6 (2021): 708–16.
14. Белая, В.В. Концентрация глюкозы в околоплодных водах как маркер воспаления амниотических оболочек при их преждевременном разрыве при недоношенной и доношенной беременности / В.В. Белая, А.С. Загородная, Т.В. Цапенко, К.В. Тимошук // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2021. – Т. 11, № 6. – С. 708–716.
15. Ventskivska, I.B., Zagorodnyaya, O.S. "Inflammation as a factor of the hourly sloping activity." *World Med Biol* 4.78 (2021): 22–6.
16. Венцківська, І.Б. Запалення як фактор передчасної пологової діяльності / І.Б. Венцківська, О.С. Загородня // Світ медицини та біології. – 2021 – № 4 (78). – С. 22–26.
17. Kuroda, K., Nakagawa, K., Horikawa, T. "Increasing number of implantation failures and pregnancy losses associated with elevated Th1/Th2 cell ratio." *Am J Reprod Immunol* 86.3 (2021): e13429.
18. Esparvarinha, M., Madadi, S., Aslanian-Kalkhoran, L. "Dominant immune cells in pregnancy and pregnancy complications: T helper cells (TH1/TH2, TH17/Treg cells), NK cells, MDSs, and the immune checkpoints." *Cell Biol Int* (2022). DOI: 10.1002/cbin.11955
19. Ariyakumar, G., Morris, J.M., McKelvey, K.J., et al. "NF-κB regulation in maternal immunity during normal and IUGR pregnancies." *Sci Rep* 11.1 (2021): 20971.
20. Bila, V.V. "The choice of method of delivery in preterm birth in terms of 24–28 weeks. Experience of the Perinatal Center." *Reproductive health. Eastern Europe* 8.4 (2018): 471–8.
21. Белая, В.В. Выбор метода родоразрешения при преждевременных родах в сроках 24–28 недель. Опыт Перинатального центра / В.В. Белая // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2018. – Т. 8, № 4. – С. 471–478.
22. Wang, W., Sung, N., Gilman-Sachs, A., Kwak-Kim, J. "T Helper (Th) Cell Profiles in Pregnancy and Recurrent Pregnancy Losses: Th1/Th2/Th9/Th17/Th22/Tfh Cells." *Front Immunol* 11 (2020): 20–5.
23. Arefieva, A., Nikolaeva, M., Stepanova, E. "Association of CD200 expression in paternal lymphocytes with female Th1/Th2 balance and pregnancy establishment at immunotherapy of recurrent spontaneous abortion." *Am J Reprod Immunol* 85.3 (2021): e13355.
24. Li, Y.X., Long, D.L., Liu, J., Qiu, D. "Gestational diabetes mellitus in women increased the risk of neonatal infection via inflammation and autophagy in the placenta." *Medicine* 99.40 (2020): e22152.
25. Ventskovskaya, I.B., Kupchik, V.I. "New molecular mechanisms of placental dysfunction." *Reproductive health. Eastern Europe* 11.6 (2021): 730–9.
26. Венцковская, И.Б. Новые молекулярные механизмы плацентарной дисфункции / И.Б. Венцковская, В.И. Купчик // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2021. – № 11 (6). – С. 730–739.
27. Le, Y., Wang, Y., Zhou, L. "Cigarette smoke-induced HMGB1 translocation and release contribute to migration and NF-κB activation through inducing autophagy in lung macrophages." *J Cell Mol Med* 24.2 (2020): 1319–31.
28. Song, H., Zhao, C., Yu, Z. "UAF1 deubiquitinase complexes facilitate NLRP3 inflammasome activation by promoting NLRP3 expression." *Nat Commun* 11.1 (2020): 6042.
29. Yu, G., Yu, H., Yang, Q. "Vibrio Harveyi infections induce production of proinflammatory cytokines in murine peritoneal macrophages via activation of p38 MAPK and NF-κB pathways, but reversed by PI3K/AKT pathways." *Dev Comp Immunol* 127 (2022): 104292.
30. Perna, N., Kesitalo, S., Chowdhury, I. "Heterozygous premature termination in zinc-finger domain of Krüppel-like factor 2 gene associates with dysregulated immunity." *Front Immunol* 13 (2022): 819929.

АКТИВНІСТЬ P65-СУБДИНИЦІ ЯДЕРНОГО ЧИННИКА NF-κB ТА СПІВВІДНОШЕННЯ Т-ХЕЛПЕРІВ I ТА II ТИПУ У ВАГІТНИХ ІЗ ПЛАЦЕНТАРНИМИ ПОРУШЕННЯМИ Й ПЕРЕДЧАСНОЮ ПОЛОГОВОЮ ДІЯЛЬНІСТЮ

І.Б. Венцківська, д. мед. н., професорка кафедри акушерства і гінекології № 1 НМУ ім. О.О. Богомольця, м. Київ
 В.І. Купчик, аспірантка кафедри акушерства і гінекології № 1 НМУ ім. О.О. Богомольця, м. Київ

Мета дослідження: вивчити рівні загальної, фосфорильованої p65-субдиниці ядерного чинника NF-κB, її активність і зв'язок із кількістю та співвідношенням Т-хелперів I та II типу у вагітних із плацентарними порушеннями й різними клінічними типами перебігу передчасної пологової діяльності (з передчасним розривом плодових оболонок (ПРПО) і без нього).

Матеріали та методи. До дослідження типу «випадок-контроль» увійшли 60 вагітних: 40 жінок із плацентарними порушеннями й розвитком спонтанної передчасної пологової діяльності на терміні 24–34 тижні (група I – 20 жінок із передчасними пологами та свчасним відходженням вод, група II – 20 жінок із ПРПО) та 20 жінок групи контролю (ГК) з нормальними терміновими пологами в головному передлежанні плода без ускладнень.

У всіх жінок досліджували кількість загальної p65-субдиниці ядерного чинника NF-κB та фосфорильованої її фракції імуноферментним методом ELISA в лізатах плаценти. На основі цього обчислювали показник активності вказаного білка; кількість Т-хелперів 1-го (Th1) і 2-го типів (Th2) досліджували шляхом проточної цитометрії у зразку цільної крові, визначаючи співвідношення обох типів Т-хелперів і зв'язок з активністю p-65 NF-κB.

Результати. У жінок із плацентарною дисфункцією виявлено підвищені рівні загального p65 і його фосфорильованої фракції ($p < 0,01$ у I та II групах при порівнянні з ГК), а також показника активності p65 у плаценті ($p < 0,01$ у групі I, $p = 0,04$ у групі II при порівнянні з ГК). Різниця концентрації Th1 та співвідношення Th1/Th2 були достовірно вищими в обох групах ($p < 0,01$ у I групі, $p = 0,03$ у II групі для Th1; $p < 0,01$ в обох групах для Th1/Th2), кількість Th2 достовірно відрізнялася лише у групі I ($p < 0,01$ при порівнянні з ГК). Виявлено сильний позитивний кореляційний зв'язок активності p65 та Th1/Th2 ($r = 0,8$).

Висновки. Отримані результати свідчать про існування підвищеної активності p-65 NF-κB у жінок із плацентарними порушеннями й розвитком спонтанної передчасної пологової діяльності без ПРПО, що впливає на зсув співвідношення Th1/Th2 у бік зростання за рахунок підвищення фракції Th1 та, найімовірніше, є основним механізмом розвитку передчасних пологів у цієї групи вагітних. Однак для жінок із розвитком передчасної пологової діяльності з ПРПО різниця з ГК має нижчий рівень значущості, що може свідчити про існування в них іншого провідного механізму ініціації передчасних пологів.

Ключові слова: субдиниця p65 NF-κB, Т-хелпери 1-го типу, Т-хелпери 2-го типу, передчасні пологи, плацентарні порушення, передчасний розрив плодових оболонок.

NF-κB P65-SUBUNIT ACTIVITY AND T-HELPERS 1 / T-HELPERS 2 RATIO IN PREGNANT WOMEN WITH PLACENTAL DISORDERS AND PREMATURE LABOR

I.B. Ventskivska, MD, professor, Obstetrics and Gynecology Department No. 1, O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv
 V.I. Kupchik, graduate student, Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv

Objectives: to study the levels of the total, phosphorylated p65-subunit of the nuclear factor NF-κB, activity of p65 and the relation with the level and ratio of T-helpers type I and II in pregnant women with placental dysfunction and different clinical types of the course of preterm labor (with preterm premature rupture of membranes (pPROM) and without it).

Materials and methods. The case-control study included 60 pregnant women: 40 women with placental disorders and spontaneous premature labor in the period of 24–34 weeks (group I – 20 women with premature labor and timely discharge of amniotic fluid, group II – 20 women with pPROM) and 20 women of the control group (CG) with normal timely delivery in the head position of a fetus without complications.

The value of the total NF-κB p65 subunit and its phosphorylated fraction was determined in all women using ELISA in placental lysates. On this basis the p65 subunit activity was calculated; number of T-helper I (Th1) and T-helper II (Th2) was determined using flow cytometry in a whole blood sample, with afterward calculation of the Th1/Th2 ratio.

Results. Elevated levels of total p65 and its phosphorylated fraction were found in women with placental dysfunction ($p < 0.01$ in groups I and II compared with CG), as well as the activity p65 ($p < 0.01$ in group I, $p = 0.04$ in group II compared with CG). The difference in the Th1 value and the Th1/Th2 ratio was significantly higher in both groups ($p < 0.01$ in group I, $p = 0.03$ in group II for Th1; $p < 0.01$ in both groups for Th1/Th2), the number of Th2 differed significantly only in group I ($p < 0.01$ compared with CG). A strong positive correlation between p65 activity and Th1/Th2 was also established ($r = 0.8$).

Conclusions. Obtained data indicates the increased NF-κB p65-subunit activity in women with placental disorders and spontaneous premature labor without pPROM, which is impact on the increase of the Th1/Th2 ratio due to the Th1 increase. This mechanism might be considered to be the leading cause of the premature birth in this group of pregnant women. However, for women with the preterm labor activity with pPROM, the difference with CG has a lower level of significance, which may indicate the existence of another leading mechanism for the initiation of premature labor in this group.

Keywords: NF-κB p65-subunit, T-helpers type 1, T-helpers type 2, premature birth, placental dysfunction, preterm premature rupture of membranes.