

## Роль типу поляризації макрофагів у патогенезі ендометріоїдної хвороби

Ю. А. Орлова  \*A,B,C,D,E, А. М. Громова  A,C,E,F, О. Є. Акімов  A,E, О. М. Кетова  E

Полтавський державний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

### Ключові слова:

ендометріоїдна хвороба, макрофаги, перитонеальна рідина.

Запорізький медичний журнал. 2021. Т. 23, № 5(128). С. 644-650

\*E-mail: [13vollmond13@gmail.com](mailto:13vollmond13@gmail.com)

Ендометріозу належить одне з провідних місць у структурі загальної гінекологічної патології. Теорії виникнення та прогресування цього захворювання суперечливі. Одним із найпоширеніших є припущення, що ендометріоз – хвороба макрофагів, але залишається дискусійним питанням про те, який саме з фенотипів макрофагів – M1 чи M2 – провідний.

**Мета роботи** – визначити тип поляризації макрофагів (M1/M2) та кількісну активність їхніх маркерних ензимів (iNos/Arg1) в ендометрії та перитонеальній рідині при ендометріоїдній хворобі.

**Матеріали та методи.** У дослідження залучили 80 жінок репродуктивного віку ( $30,95 \pm 6,49$ ). Основна група (ОГ) – 50 жінок з ендометріоїдною хворобою; контрольна (КГ) – 30 пацієнок без ознак ендометріоїдної хвороби. У жінок з основної ( $n = 24$ ) та контрольної ( $n = 27$ ) груп до оперативного лікування брали зразки ендометрія за допомогою внутрішньо-маткового Пайпель катетера в першу фазу менструального циклу. Під час лапароскопічного чи лапаротомічного доступу брали перитонеальну рідину (в ОГ –  $n = 24$ , у КГ –  $n = 28$ ). Тип поляризації макрофагів (M1 або M2) встановлювали шляхом визначення співвідношення активності маркерних ензимів (Arg1, iNos) у кожній пацієнтки спектрофотометричним методом в ендометрії та перитонеальній рідині. Поляризацію за M1 фенотипом визначали при  $iNos > Arg1$ , за M2 фенотипом – при  $Arg1 > iNos$ .

**Результати.** Виявили, що в жінок з ендометріоїдною хворобою частіше виявляють спайковий процес органів малого таза – 84,0 % проти 46,7 % відповідно, а особливо 3 і 4 ступені тяжкості ( $p < 0,05$ ). Оцінюючи тип макрофагів у перитонеальній рідині, встановили: вірогідно більше жінок з ОГ мали поляризацію макрофагів за M2 фенотипом порівняно з КГ (58,3 % проти 28,6 %,  $p = 0,03$ ). Саме поляризація макрофагів за M2 фенотипом впливає на тяжкість ендометріоїдної хвороби, а особливо на 4 ступінь. Середнє значення рівня активності iNOS у жінок ОГ і в перитонеальній рідині, й ендометрії вірогідно відрізняються від показників КГ (в 1,73 і 1,77 рази відповідно).

**Висновки.** Ендометріоз – хвороба, розвиток і прогресування якої відбувається внаслідок впливу M2 фенотипу макрофагів. Враховуючи збільшення середнього значення рівня активності iNOS у перитонеальній рідині та ендометрії, можна зробити висновок про вплив iNOS на патогенез ендометріоїдної хвороби.

### Key words:

endometriosis, macrophages, peritoneal fluid.

Zaporozhye medical journal 2021; 23 (5), 644-650

## The role of the macrophage polarization type in the pathogenesis of endometrioid disease

Yu. A. Orlova, A. M. Hromova, O. Ye. Akimov, O. M. Ketova

Endometriosis today occupies one of the leading places in the structure of general gynecological pathology. Theories of the onset and progression of this disease are controversial. One of the most widespread theories is the assumption that endometriosis is a disease of macrophages. The question of which the macrophage phenotype, M1 or M2, is the leading one, however, remains controversial.

**The aim.** To determine the type of macrophage polarization (M1/M2) and the quantitative activity of their marker enzymes (iNos/Arg1) in the endometrium and peritoneal fluid in endometrioid disease.

**Materials and methods.** The total number of reproductive age ( $30.95 \pm 6.49$ ) women enrolled in the study was 80. The main group consisted of 50 women with endometrioid disease. The control group included 30 women without signs of endometrioid disease. Women from the main group ( $n = 24$ ) and the control group ( $n = 27$ ) underwent endometrial sampling using an intra-uterine Pipelle catheter in the first phase of the menstrual cycle before a surgery. During laparoscopic or laparotomy approaches, peritoneal fluid was taken (in the main group  $n = 24$ , in the control group  $n = 28$ ). The type of macrophage polarization (M1 or M2) was determined based on the ratio of marker enzymes (Arg1, iNos) activity in each patient using a spectrophotometric method in the endometrium and peritoneal fluid. The polarization to the M1 phenotype was determined at  $iNos > Arg1$ , and at  $Arg1 > iNos$  – the polarization to the M2 phenotype.

**Results.** As a result of the study, it was revealed that in women with endometrioid disease, pelvic adhesions were much more common, 84.0 % versus 46.7 % in women without it, and especially 3 and 4 degree of severity ( $P < 0.05$ ). When assessing the type of macrophages in the peritoneal fluid, a significantly greater number of the main group women had the M2 phenotype of macrophage polarization compared to the control group (58.3 % versus 28.6 %,  $P = 0.03$ ). It was the macrophage polarization to the M2 phenotype that influenced the severity of endometrioid disease, especially the 4 degree of severity. The mean values of the iNOS activity in the main group women, both in the peritoneal fluid and in the endometrium, significantly differed from those in the control group patients (by 1.73 and 1.77 times, respectively).

**Conclusions.** Thus, we can conclude that endometriosis is a disease, the development and progression of which is induced by the M2 phenotype of macrophages. Considering the increase in the mean levels of iNOS activity both in the peritoneal fluid and in the endometrium, it can be concluded that iNOS influences the pathogenesis of endometrioid disease.

## Роль типа поляризации макрофагов в патогенезе эндометриозной болезни

Ю. А. Орлова, А. М. Громова, О. Е. Акимов, Е. Н. Кетова

Эндометриозу принадлежит одно из ведущих мест в структуре общей гинекологической патологии. Теории возникновения и прогрессирования этого заболевания противоречивы. Одним из самых распространенных является предположение, что эндометриоз – болезнь макрофагов, но остается дискуссионным вопросом о том, какой именно из фенотипов макрофагов – M1 или M2 – ведущий.

**Цель работы** – определить тип поляризации макрофагов (M1/M2) и количественную активность их маркерных ферментов (iNos/Arg1) в эндометрии и перитонеальной жидкости при эндометриозной болезни.

**Материалы и методы.** В исследование включили 80 женщин репродуктивного возраста ( $30,95 \pm 6,49$ ). Основная группа (ОГ) состояла из 50 женщин с эндометриозной болезнью, контрольная (КГ) – 30 пациенток без признаков эндометриозной болезни. У женщин из основной ( $n = 24$ ) и контрольной ( $n = 27$ ) групп до оперативного лечения брали образцы эндометрия с помощью внутриматочного Пайпель катетера в первую фазу менструального цикла. Во время лапароскопического или лапаротомического доступов брали перитонеальную жидкость (в ОГ –  $n = 24$ , КГ –  $n = 28$ ). Тип поляризации макрофагов (M1 или M2) определяли по соотношению активности маркерных ферментов (Arg1, iNos) у каждой пациентки спектрофотометрическим методом в эндометрии и перитонеальной жидкости. Поляризацию по M1 фенотипу определяли при  $iNos > Arg1$ , по M2 фенотипу – при  $Arg1 > iNos$ .

**Результаты.** Установлено, что у женщин с эндометриозной болезнью значительно чаще диагностируют спаечный процесс органов малого таза – 84,0 % против 46,7 % соответственно, а особенно 3 и 4 степени тяжести ( $p < 0,05$ ). При оценке типа макрофагов в перитонеальной жидкости отмечено, что достоверно большее количество женщин из ОГ имели поляризацию макрофагов по M2 фенотипу по сравнению с КГ (58,3 % против 28,6 %,  $p = 0,03$ ). Именно поляризация макрофагов по M2 фенотипу влияет на тяжесть эндометриозной болезни, особенно на 4 степень. Среднее значение уровня активности iNOS у женщин ОГ и в перитонеальной жидкости, и в эндометрии достоверно отличаются от КГ (в 1,73 и 1,77 раза соответственно).

**Выводы.** Эндометриоз – болезнь, развитие и прогрессирование которой осуществляется за счёт M2 фенотипа макрофагов. Учитывая увеличение среднего значения уровня активности iNOS в перитонеальной жидкости и эндометрии, можно сделать вывод о влиянии iNOS на патогенез эндометриозной болезни.

**Ключевые слова:**  
эндометриозная болезнь,  
макрофаги,  
перитонеальная жидкость.

Запорожский  
медицинский журнал.  
2021. Т. 23, № 5(128).  
С. 644-650

Ендометриозу належить одне з провідних місць у структурі загальної гінекологічної патології. Особливої уваги потребують жінки репродуктивного віку з ендометриозною хворобою [1].

Відомо, що ендометриоз – захворювання, основна концепція якого полягає в життєздатності тканини, подібної до ендометрія. Незважаючи на те, що така тканина має здебільшого атипову локалізацію, за структурними та функціональними характеристиками вона схожа на ендометріальну [1].

Ендометриозні гетеротопії мають здатність до переміщення в різні локалізації в організмі людини. Внаслідок цього захворювання виникає ураження не тільки органів генеративного тракту, але й інших систем макроорганізму. Отже, спостерігають не тільки місцеву, але й системну реакцію організму. Тому цю нозологію визначають як ендометриозну хворобу (ЕХ) [2]. Нині поглиблюється вивчення патогенезу ЕХ, оскільки теорії виникнення та прогресування цього захворювання є суперечливими та недостатньо патогенетично обґрунтованими [3].

За імплантаційною теорією, з ретроградним потоком крові клітини ендометрія починають автономну життєдіяльність. Потрапляння клітин ендометрія в черевну порожнину супроводжується асептичною запальною реакцією з хемотаксисом макрофагів [4].

Одним із найпоширеніших є припущення, що розвиток ендометриозних гетеротопій спричиняє імунна відповідь унаслідок ефекту саме M2 фенотипу макрофагів, що мають проонкогенні властивості, за іншими даними – M1 [5]. Це залежить від імунної відповіді шляхом Т-хелперів 1 типу (Тх1) або Т-хелперів типу (Тх2) [6]. У більшості досліджень показана імунна відповідь при ендометриозі саме за типом Тх2 [7], хоча є відомості, що залежно від стадії ураження, як-от при глибокому

інфільтративному ендометриозі, імунна відповідь відбувається за Тх1 типом [8]. Утім немає доказової бази щодо того, який саме тип макрофагів превалює в різних субстратах жінок з ендометриозом [5].

Маркерним ферментом типів макрофагів при M1 є індукцибельна NO-синтаза (iNos), а при M2 – аргіназа 1 (Arg1) [9].

Відомо, що більша активність iNos продукує більшу кількість оксиду азоту (NO), який є важливим фактором жіночої репродуктивності, овуляції, менструальної функції, імплантації, вагітності та пологів. Високий рівень NO може негативно впливати на фертильність. Збільшена продукція NO у разі взаємодії з супероксидним аніон-радикалом може призводити до утворення пероксинітриду (ONOO<sup>-</sup>), що спричиняє розвиток оксидативно-нітрозативного ушкодження різних органів і тканин [10].

Визначення етіологічних і патогенетичних аспектів, а саме превалювання M1 чи M2 фенотипу макрофагів, а також кількісної активності їхніх маркерних ферментів при ендометриозній хворобі є пріоритетним питанням для розширення діагностичних можливостей цієї патології.

### Мета роботи

Визначити тип поляризації макрофагів (M1/M2) та кількісну активність їхніх маркерних ферментів (iNos/Arg1) в ендометрії та перитонеальній рідині при ендометриозній хворобі.

### Матеріали і методи дослідження

В основну групу (ОГ) включили жінок із генітальним ендометриозом ( $n = 50$ ). Діагноз і ступінь тяжкості ендометриозу встановлювали згідно з наказом МОЗ України

№ 319 від 6 квітня 2016 р. «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги «Тактика ведення пацієнток з генітальним ендометріозом» [11]. У контрольну групу (КГ) увійшли 30 жінок без ендометріодних гетеротопій.

Усі жінки отримали хірургічне лікування з приводу доброякісної гінекологічної патології яєчників і маткових труб та/або непліддя на базах гінекологічних відділень лікувальних закладів міста Полтави: КП «Полтавський міський клінічний пологовий будинок» Полтавської міської ради, КП «5 міська клінічна лікарня ПМР», КП «Полтавська центральна районна клінічна лікарня» ПМР.

Жінки, яких залучили у групи дослідження, були репродуктивного віку: середнє значення у групі пацієнток з ендометріодною хворобою становило  $31,04 \pm 6,30$  року, у контрольній групі –  $30,8 \pm 6,8$  року, різниця невірогідна ( $p > 0,05$ ).

Критерії залучення в дослідження – репродуктивний вік, доброякісні гінекологічні утворення яєчників і маткових труб, первинне та вторинне непліддя нез'ясованого ґенезу, ендометріодні гетеротопії різної локалізації, підтверджені клінічними проявами, ультразвуковим методом дослідження та лапароскопічною візуалізацією.

Критерії виключення з дослідження – відсутність матки або аномалії її розвитку, позаматкова вагітність, злякнісні новоутворення органів генеративного тракту.

Після підписання інформованої згоди на участь у дослідженні в жінок основної ( $n = 24$ ) і контрольної ( $n = 27$ ) груп до оперативного лікування брали зразки ендометрія за допомогою внутрішньоматкового Пайпель катетера в першу фазу менструального циклу після попереднього визначення чистоти піхви та цервікального каналу (бактеріоскопічне та бактеріологічне дослідження), а також якщо не було ознак запалення. Під час лапароскопічного чи лапаротомічного доступу брали перитонеальну рідину за допомогою стерильного катетера та шприца (5–15 мл).

Тип поляризації макрофагів (M1 або M2) визначали за співвідношенням активності маркерних ензимів (Arg1, iNos) у кожній пацієнтки спектрофотометричним методом в ендометрії та перитонеальній рідині (спектрофотометр Ulab 101, Germaine Laboratories, Inc.) на базі кафедри патофізіології Полтавського державного медичного університету. Поляризацію за M1 фенотипом визначали при iNos  $>$  Arg1, за M2 фенотипом – при Arg1  $>$  iNos.

Активність iNos визначали за різницею між загальною активністю NO-синтаз та активністю конститутивних ізоформ. Активність конститутивних ізоформ NO-синтази встановлювали за різницею концентрації нітритів до та після інкубації гомогенату тканин в інкубаційному середовищі на основі трис-буферного розчину (pH = 7,4), що містить 0,3 мл 320 мМ розчину L-аргініну, 0,1 мл 1 мМ розчину НАДФН<sub>2</sub> та 0,1 мл 1 % розчину аміногуанідину гідрохлориду [12]. Концентрацію нітритів визначали шляхом виявлення діазосполук, що утворилися в реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з  $\alpha$ -нафтиламином (реактив Грісса–Лосвая). В результаті цієї реакції утворюються похідні червоного кольору (азобарвники). Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації нітритів [13].

Метод визначення аргінази 1 базується на визначенні різниці концентрації L-орнітину до та після інкубації в фосфатному буферному розчині, що містить L-аргінін. Концентрацію L-орнітину визначають за кольоровим продуктом, що утворюється в реакції з реактивом Chinard у модифікації Храмова [14].

Статистично результати опрацювали за допомогою програми MedStat (серійний № MS00019) та Statistica 10. Використовували методи описової статистики. Кількісні показники наведені як середні значення (M) та їхнє стандартне відхилення (SD), якісні показники – як частоти та відсотки. Для визначення різниці за показниками використовували параметричні та непараметричні методи: t-критерій Стьюдента або U-критерій Манна–Вітні, точний критерій Фішера, критерій  $\chi^2$  Пірсона. При  $p < 0,05$  відмінності вважали статистично значущими.

## Результати

Жінкам основної та контрольної груп виконали оперативне втручання з приводу доброякісної гінекологічної патології. В плановому порядку лапароскопічне втручання виконали 41 (82 %) жінці ОГ, 30 (100 %) пацієнткам КГ. Лапаротомію з нижньосереднім доступом виконали 9 (18 %) хворим ОГ, у КГ входження у черевну порожнину лапаротомічним доступом не виконували.

Під час хірургічного втручання визначали наявність спайкового процесу органів малого таза, ендометріодних гетеротопій, ступінь тяжкості спайкового процесу, ураження маткових труб та/або яєчників.

Оцінювання спайкового процесу виконали за допомогою бальної класифікації аднексальних спайок Американського товариства фертильності (ASRM). За цією класифікацією оцінювали такі критерії: щільність спайок (ніжні чи щільні), залучення структур (яєчники та/або маткові труби), поширеність на структурах (покривають  $<1/3$ ,  $<1/3$ – $2/3$ ,  $>2/3$ ), наявність повної облітерації позаматкового простору [11]. Під час обчислення балів розрізняли такі ступені ураження спайковим процесом: 1 (мінімальний) – 0–5 балів, 2 (середній) – 6–10, 3 (помірний) – 11–20 балів, 4 (важкий) – понад 21 бал [15].

В ОГ не було спайкового процесу тільки у 8 (16,0 %) жінок, що вірогідно менше, ніж у КГ – 16 (53,3 %,  $p < 0,001$ ). Ураження спайками першого ступеня діагностували в 12 (24,0 %) жінок ОГ та 8 (26,7 %) пацієнток КГ, різниця невірогідна ( $p = 0,79$ ). Другий ступінь спайкового процесу органів малого таза встановлений у 12 (24 %) жінок з ендометріодною хворобою, у КГ – у 6 (20 %) пацієнток, без вірогідної різниці ( $p = 0,67$ ). Третій ступінь ураження спайковою хворобою діагностували тільки в 10 (20 %) жінок ОГ, що достовірно більше, ніж у КГ ( $p < 0,05$ ). Найпоширеніше спайкове ураження (четвертий ступінь хвороби) зафіксували у 8 (16 %) жінок з ендометріозом, а в КГ таких випадків не було ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

Отже, спайкову хворобу органів малого таза діагностували вірогідно частіше в ОГ, ніж у жінок КГ, особливо третій і четвертий ступені ураження ( $p < 0,05$ ).

Далі в ОГ оцінювали ступінь тяжкості ЕХ за класифікацією Американського товариства фертильності, яка, крім бального оцінювання спайкового процесу, передбачає визначення глибини ураження ендометріодною

тканиною органів черевної порожнини, а також ступінь її поширеності. За розміром ураження розрізняють гетеротопії: <1 см, 1–3 см, >3 см; за локалізацією: ураження очеревини (поверхнєве або глибоке), ураження яєчника лівого/правого чи обох (поверхнєве або глибоке).

Поділ жінок ОГ за ступенями тяжкості ендометріодної хвороби: перший ступінь за ASRM – 2 (4 %) пацієнтки, другий ступінь тяжкості ендометріозу не виявили, третій ступінь – у 33 (66 %) осіб, четвертий – у 15 (30 %) хворих. Тобто найчастіше діагностували ураження ендометріодної хворобою третього ступеня тяжкості.

Слід зазначити, більша частота виявлення високого ступеня ЕХ зумовлена тим, що хірургічне втручання призначають у разі тривалого перебігу хвороби та консервативного лікування, коли є виражений больовий синдром. Хоча нині вважають, що сприятливіші прогнози для збереження фолікулярного апарату має оперативне лікування на ранніх стадіях захворювання [16].

Під час лапароскопічного (через троакар) чи лапаротомічного (через розріз) доступів із позаматкового простору набирали перитонеальну рідину: в ОГ –  $n = 24$  (100 %), в КГ –  $n = 28$  (100 %). Кількісно визначали активність iNOS та Arg1. Враховуючи, що, за даними фахової літератури [5], вони є маркерними ензимами макрофагів типу M1 і M2 відповідно, різниця кількісної активності того чи іншого ензиму в досліджуваному матеріалі вказує на превалювання першого чи другого фенотипу макрофагів.

Поляризація за M2 фенотипом (регенераційний, пухлиноутворювальний тип) в перитонеальній рідині виявлена в 14 (58,3 %) жінок з ендометріозом, а в КГ – у 8 (28,6 %) пацієнток, різниця вірогідна ( $p = 0,03$ ). Відповідно, поляризація за M1 фенотипом в ОГ визначена у 10 (41,7 %) жінок, у КГ – у 20 (71,4 %).

При ЕХ макрофаги 2 фенотипу спричиняють поширення та проліферацію ендометріодних гетеротопій. Вони зумовлюють ураження очеревини шляхом ремоделювання екстрацелюлярного матриксу та внаслідок процесів неоваскуляризації, призводячи до розвитку та прогресування хвороби [17].

Отже, превалювання макрофагів M2 в перитонеальній рідині жінок з ендометріодною хворобою свідчить про роль саме цього типу макрофагів у патогенезі нозології та впливає на її виникнення.

Оцінили відповідність різних типів макрофагів і ступенів тяжкості ендометріодної хвороби для визначення впливу фенотипу макрофагів на погіршення стадії захворювання.

Ступені тяжкості ендометріозу в жінок із M2 типом макрофагів у перитонеальній рідині ( $n = 14$ , 100 %): перший і другий не виявлені, 3 ступінь – 8 (57,1 %) пацієнток, 4 – 6 (42,9 %) осіб.

У жінок ОГ із типом поляризації макрофагів M1 у перитонеальній рідині ( $n = 10$ , 100 %) ступені тяжкості ендометріозу: 1 – в 1 (10 %) пацієнтки, 3 ступінь – у 9 (90 %), другий і четвертий ступені не виявили.

Отже, наявність макрофагів M2 типу поляризації в перитонеальній рідині в жінок з ендометріозом впливає на прогресування хвороби, а саме на розвиток 4 ступеня тяжкості (рис. 2).

Зробили висновок, що M2 в перитонеальній рідині в патогенезі ендометріозу відіграє істотнішу роль, ніж

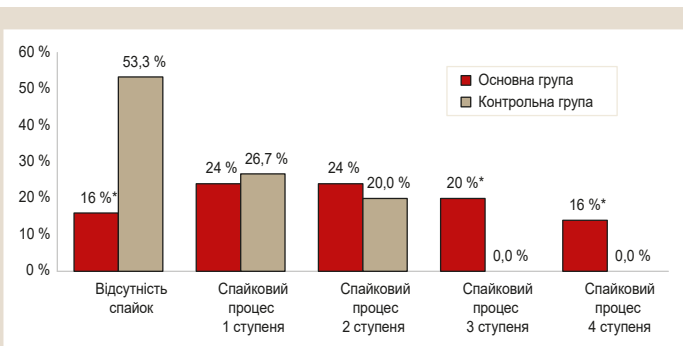


Рис. 1. Структура груп дослідження за ступенем тяжкості спайкового процесу органів малого таза.

\*:  $p \leq 0,05$  при порівнянні показників груп дослідження.

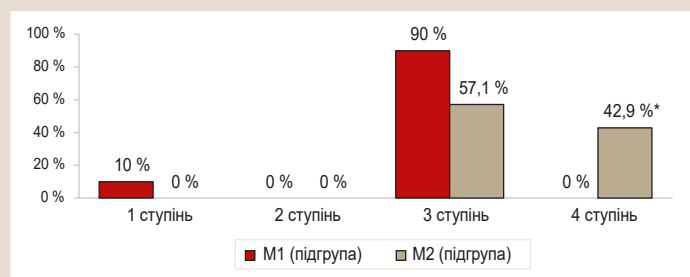


Рис. 2. Відсоткове співвідношення типів макрофагів у M1/M2 підгрупах залежно від ступеня тяжкості ендометріозу.

\*:  $p \leq 0,05$  при порівнянні показників груп дослідження.

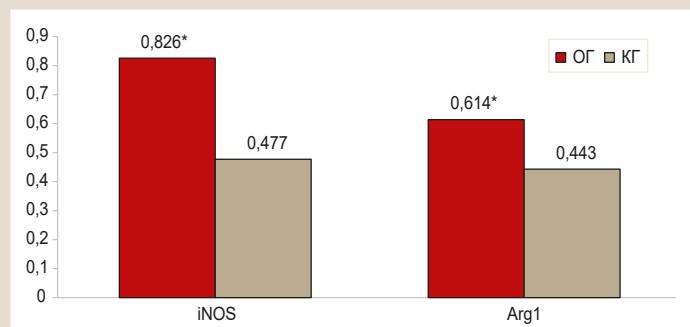


Рис. 3. Рівень iNOS та Arg1 у перитонеальній рідині жінок основної та контрольної груп.

\*:  $p \leq 0,05$  при порівнянні показників груп дослідження.

M1, не тільки призводячи до розвитку ЕХ, а ще й до її прогресування.

Оцінювали також кількісну активність маркерних ензимів макрофагів iNOS та Arg1 у перитонеальній рідині жінок із груп дослідження: в ОГ –  $n = 24$ , у КГ –  $n = 28$ .

Виявили, що в жінок з ендометріодною хворобою вірогідно більша кількісна активність iNOS у перитонеальній рідині: в ОГ вона становила  $0,826 \pm 0,683$  (95 % ДІ  $0,538-1,115$ ), що в 1,73 раза більше, ніж у КГ  $0,477 \pm 0,235$  (95 % ДІ  $0,386-0,569$ ,  $p = 0,02$ ).

Активність аргінази 1 у перитонеальній рідині також статистично вірогідно відрізнялася у групах дослідження: в ОГ –  $0,614 \pm 0,334$ , в КГ –  $0,443 \pm 0,345$  (U-критерій Манна-Вітні – 226,  $p = 0,04$ ) (рис. 3).

Враховуючи сучасні відомості щодо макрофагів M1 і M2 у структурі ендометрія та матки як органа

репродуктивної системи, що може бути залучений у процес розвитку ЕХ, до оперативного втручання та після підписання інформованої згоди пацієнткам виконували Пайпель-біопсію ендометрія в першу фазу менструального циклу (в ОГ –  $n = 24$ , у КГ –  $n = 27$ ).

Під час визначення типу макрофагів в ендометрії жінок із груп дослідження вірогідну різницю не виявили: в ОГ М2 превалювали у 4 (16,7 %), у КГ – у 6 (22,2 %) пацієток ( $p > 0,05$ ). Але оцінка кількісної активності iNOS в ендометрії жінок ОГ у 1,77 раза вища, ніж у КГ, становлячи  $1,74 \pm 1,36$  проти  $0,98 \pm 0,57$  відповідно (U-критерій Манна-Вітні – 217,  $p = 0,04$ ).

Оцінюючи кількісну активність Arg1 в ендометрії жінок з ЕХ та без неї, не встановили статистично значущі відмінності: кількісна активність в ОГ становила  $0,414 \pm 0,245$ , в КГ –  $0,576 \pm 0,514$  (U-критерій Манна-Вітні – 299,  $p = 0,64$ ).

### Обговорення

Ендометріоз – захворювання, що має хронічний асептичний компонент запалення [18]. Спайковий процес є одним із проявів такого хронічного запалення, що підтверджено в нашому дослідженні. У жінок з ендометрією хворобою значно частіше діагностують спайковий процес органів малого таза – 84,0 % проти 46,7 %, а також визначають відмінності за ступенями його тяжкості. Так, 3 і 4 ступені тяжкості вірогідно частіше визначали при ендометрії хвороби. На цей факт треба зважати під час планування оперативного лікування пацієток.

Питання щодо патогенетичних ланок ендометрії хвороби залишається відкритим. Вважають, що ендометріоз – хвороба макрофагів [18], але дискусійним є аспект превалювання конкретного типу макрофагів [5]. Це потрібно для розуміння діагностики та лікування ЕХ.

Дослідження, що здійснили, показало: при ендометріозі в більшості жінок у перитонеальній рідині порівняно з групою контролю превалює саме М2, який спричиняє розвиток цієї патології – 58,3 % проти 28,6 % відповідно. Аналогічні дані отримали автори дослідження [19]. Варто наголосити, що утворення нових судин за участю макрофагів, а саме М2, – аспект, який зумовлює прогресування та проліферативні процеси в різноманітних пухлинах [5].

Під час дослідження з'ясували, що саме М2 частіше виявляють у жінок із 4 ступенем тяжкості ендометрії хвороби. Це може вказувати на провідну роль цього типу макрофагів у патогенезі тяжкості перебігу ендометріозу.

Враховуючи, що маркерними ензимами макрофагів є iNOS (M1) і Arg1 (M2), особливий інтерес викликало кількісне оцінювання їхньої активності. Відомо, що ЕХ класифікована як пухлиноподібна патологія [20], а підвищення iNOS спостерігають при онкологічних захворюваннях яєчників, молочної залози, простати та інших органів репродуктивної системи [21].

Під час нашого дослідження виявили вірогідне превалювання середнього значення активності iNOS і в перитонеальній рідині, й ендометрії жінок ОГ порівняно з пацієнтками КГ (в 1,73 і 1,77 раза відповідно).

Підвищення цих показників підтверджено іншими дослідженнями [22].

Збільшення середнього значення активності iNOS у досліджуваних субстратах при ЕХ може бути зумовлене тим, що iNOS залучена у процеси інвазії та проліферації клітин ендометрія, а її підвищена експресія впливає на ангиогенез і спричиняє уникнення від апоптозу клітин [23].

Підвищене середнє значення активності iNOS у перитонеальній рідині в ОГ можна пояснити наявністю спайкового процесу 3 і 4 ступенів тяжкості.

У разі розвитку спайкового процесу спостерігають посилення експресії iNOS у місці його розвитку, але джерелом збільшеної експресії iNOS є не макрофаги, а ендотеліальні клітини та гладкі м'язи [24].

Отже, в нашому дослідженні збільшення активності аргінази 1 в жінок з ендометріозом є об'єктивнішим показником для визначення типу поляризації макрофагів у кожному випадку.

### Висновки

1. У жінок з ендометрією хворобою частіше діагностують спайковий процес органів малого таза (84,0 % проти 46,7 %) та визначають відмінності за ступенями тяжкості спайкового процесу, зокрема 3 і 4.

2. Виявили вірогідну різницю за превалюванням макрофагів М2 фенотипу в перитонеальній рідині жінок з ендометріозом – 58,3 % проти 28,6 % ( $p = 0,03$ ).

3. На тяжкість перебігу ендометрії хвороби впливає саме М2 фенотип макрофагів, особливо на пізніх етапах перебігу.

4. Рівень iNOS у перитонеальній рідині й ендометрії жінок з ендометріозом вірогідно вищий – в 1,73 і 1,77 раза ( $p < 0,05$ ) відповідно порівняно з показниками жінок без ознак ендометрії хвороби.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у продовженні вивчення різних аспектів патогенезу ендометрії хвороби для розширення діагностичних і лікувальних можливостей для цієї патології.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 09.04.2021

Після доопрацювання / Revised: 17.05.2021

Прийнято до друку / Accepted: 26.05.2021

### Відомості про авторів:

Орлова Ю. А., аспірантка каф. акушерства і гінекології № 1, Полтавський державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0001-8839-1840](https://orcid.org/0000-0001-8839-1840)

Громова А. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. акушерства і гінекології № 1, Полтавський державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0002-7396-7023](https://orcid.org/0000-0002-7396-7023)

Акімов О. Є., д-р філософії, викладач каф. патофізіології, Полтавський державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0002-4958-3695](https://orcid.org/0000-0002-4958-3695)

Кетова О. М., канд. мед. наук, асистентка каф. акушерства і гінекології № 1, Полтавський державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0002-9538-0784](https://orcid.org/0000-0002-9538-0784)

**Information about authors:**

Orlova Yu. A., MD, PhD student of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, Poltava State Medical University, Ukraine.

Hromova A. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, Poltava State Medical University, Ukraine.

Akimov O. Ye., MD, PhD, Lecturer of the Department of Pathophysiology, Poltava State Medical University, Ukraine.

Ketova O. M., MD, PhD, Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, Poltava State Medical University, Ukraine.

**Сведения об авторах:**

Орлова Ю. А., аспирант каф. акушерства и гинекологии № 1, Полтавский государственный медицинский университет, Украина.

Громова А. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. акушерства и гинекологии № 1, Полтавский государственный медицинский университет, Украина.

Акимов О. Е., д-р философии, преподаватель каф. патофизиологии, Полтавский государственный медицинский университет, Украина.

Кетова Е. Н., канд. мед. наук, ассистент каф. акушерства и гинекологии № 1, Полтавский государственный медицинский университет, Украина.

**Список літератури**

- [1] Иммуногистохимические особенности эндометриоза у пациенток с рецидивирующим течением эндометриоза / Е. Ю. Пшеничнюк, А. В. Асатурова, Л. В. Адамян, Н. В. Зайцев. *Акушерство и гинекология*. 2018. № 3. С. 84-95. <https://doi.org/10.18565/aig.2018.3.84-95>
- [2] Баранов В. С. Эндометриоз как проблема системной генетики. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2013. Т. 62. № 1. С. 71-78. <https://doi.org/10.17816/JOWD62171-78>
- [3] Wang Y., Nicholes K., Shih I. M. The Origin and Pathogenesis of Endometriosis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2020. Vol. 15. P. 71-95. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032654>
- [4] Содержание хемокинов и цитокинов в перитонеальной жидкости больных наружным генитальным эндометриозом различной степени тяжести / Д. И. Соколов и др. *Медицинская иммунология*. 2007. Т. 9. № 1. С. 85-90. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2007-1-85-90>
- [5] Macrophage and nerve interaction in endometriosis / J. Wu et al. *Journal of Neuroinflammation*. 2017. Vol. 14. Issue 1. P. 53. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0828-3>
- [6] Монастырская Е. А., Лямина С. В., Малышев И. Ю. М1 и М2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии. *Патогенез*. 2008. Т. 6. № 4. С. 31-39.
- [7] Пономаренко И. В., Конева О. А., Алтухова О. Б. Молекулярные основы этиопатогенеза и клиники эндометриоза. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2016. № 19. С. 11-16.
- [8] Th1 and Th2 immune responses related to pelvic endometriosis / S. Podgaec et al. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2010. Vol. 56. Issue 1. P. 92-98. <https://doi.org/10.1590/s0104-42302010000100022>
- [9] Pro-inflammatory response ensured by LPS and Pam3CSK4 in RAW 264.7 cells did not improve a fungistatic effect on *Cryptococcus gattii* infection / G. Y. de Campos et al. *PeerJ*. 2020. Vol. 8. P. e10295. <https://doi.org/10.7717/peerj.10295>
- [10] Functional role of iNOS-Rac2 interaction in neutrophil extracellular traps (NETs) induced cytotoxicity in sepsis / S. Kumar et al. *Clinica Chimica Acta*. 2021. Vol. 513. P. 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.12.004>
- [11] Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при генітальному ендометріозі : наказ МОЗ України від 06.04.2016 № 319. URL : <https://www.dec.gov.ua/mtd/genitalnyj-ndometriozi/>
- [12] Yelins'ka A. M., Akimov O. Ye., Kostenko V. O. Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019. Vol. 91. Issue 1. P. 80-85. <https://doi.org/10.15407/ubj91.01.080>
- [13] Akimov O. Ye., Kostenko V. O. Role of NF-κB transcriptional factor activation during chronic fluoride intoxication in development of oxidative-nitrosative stress in rat's gastric mucosa. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2020. Vol. 61. P. 126535. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126535>

- [14] Akimov O. Ye., Kostenko V. O. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2016. Vol. 88. Issue 6. P. 70-75. <https://doi.org/10.15407/ubj88.06.070>
- [15] Спаечная болезнь органов малого таза: современные возможности профилактики / И. С. Захаров и др. *Consilium Medicum*. 2016. Т. 18. № 6. С. 71-73. [https://doi.org/10.26442/2075-1753\\_2016.6.71-73](https://doi.org/10.26442/2075-1753_2016.6.71-73)
- [16] Recommendations for the Surgical Treatment of Endometriosis. Part 1: Ovarian Endometrioma / Working group of ESGE et al. *Human Reproduction Open*. 2017. Vol. 2017. Issue 4. P. hox016. <https://doi.org/10.1093/hropen/hox016>
- [17] IL-17A Modulates Peritoneal Macrophage Recruitment and M2 Polarization in Endometriosis / J. E. Miller et al. *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 11. P. 108. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00108>
- [18] Early Endometriosis in Females Is Directed by Immune-Mediated Estrogen Receptor α and IL-6 Cross-Talk / K. A. Burns et al. *Endocrinology*. 2018. Vol. 159. Issue 1. P. 103-118. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00562>
- [19] Endometriosis Patients Show an Increased M2 Response in the Peritoneal CD14<sup>low</sup>/CD68<sup>low</sup> Macrophage Subpopulation Coupled with an Increase in the T-helper 2 and T-regulatory Cells / Q. J. Hudson et al. *Reproductive Sciences*. 2020. Vol. 27. Issue 10. P. 1920-1931. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00211-9>
- [20] Серомуцинозные опухоли яичников и эндометриоз у женщин репродуктивного возраста / М. В. Шамакова и др. *Акушерство и гинекология*. 2018. № 7. С. 84-91. <https://doi.org/10.18565/aig.2018.7.84-91>
- [21] Kielbik M., Szulc-Kielbik I., Klink M. The Potential Role of iNOS in Ovarian Cancer Progression and Chemoresistance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20. Issue 7. P. 1751. <https://doi.org/10.3390/ijms20071751>
- [22] Increased Expression of Pattern Recognition Receptors and Nitric Oxide Synthase in Patients with Endometriosis / S. G. Yeo et al. *International Journal of Medical Sciences*. 2013. Vol. 10. Issue 9. P. 1199-1208. <https://doi.org/10.7150/ijms.5169>
- [23] The modulation of endometriosis by lncRNA MALAT1 via NF-κB/iNOS / J. Yu, L. H. Chen, B. Zhang, Q. M. Zheng. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2019. Vol. 23. Issue 10. P. 4073-4080. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_201905\\_17908](https://doi.org/10.26355/eurrev_201905_17908)
- [24] Viable cryopreserved umbilical tissue (vCUT) reduces post-operative adhesions in a rabbit abdominal adhesion model / S. Dhall et al. *Bioactive Materials*. 2018. Vol. 4. Issue 1. P. 97-106. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.09.002>

**References**

- [1] Pshenichnyuk, E. Yu., Asaturova, A. V., Adamyan, L. V., & Zaitsev, N. V. (2018). Immunogistokhimicheskie osobennosti eutopicheskogo i ektopicheskogo endometriya u patsientok s retsdiviruyushchim techeniem endometrioidnykh kist yaichnikov [Immunohistochemical features of eutopic and ectopic endometrium in patients with recurrent ovarian endometrioid cysts]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (3), 84-95. <https://doi.org/10.18565/aig.2018.3.84-95> [in Russian].
- [2] Baranov, V. S. (2013). Endometriozi kak problema sistemnoi genetiki [Endometriosis as systemic genetic problem]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznei*, 62(1), 71-78. <https://doi.org/10.17816/JOWD62171-78> [in Russian].
- [3] Wang, Y., Nicholes, K., & Shih, I. M. (2020). The Origin and Pathogenesis of Endometriosis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 15, 71-95. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032654>
- [4] Sokolov, D. I., Kondratjeva, P. G., Jarmolinskaja, M. I., Kramareva, N. L., Seljutin, A. V., Rulev, V. V., Niauri, D. A. & Selkov, S. A. (2014). Soderzhanie khemokinov i tsitokinov v peritoneal'noi zhidkosti bol'nykh naruzhnykh genital'nym endometrioziom razlichnoi stepeni tyazhesti [Contents of chemokines and cytokines in peritoneal fluid from the patients with endometriosis of various severity]. *Meditsinskaya immunologiya*, 9(1), 85-90. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2007-1-85-90> [in Russian].
- [5] Wu, J., Xie, H., Yao, S., & Liang, Y. (2017). Macrophage and nerve interaction in endometriosis. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1), Article 53. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0828-3>
- [6] Monastyrskaya, E. A., Lyamina, S. V., & Malyshev, I. Yu. (2008). M1 i M2 fenotipy aktivirovannykh makrofagov i ikh rol' v immunnom otvete i patologii [M1 and M2 phenotypes of activated macrophages and their role in immune response and pathology]. *Patogenez*, 6(4), 31-39. [in Russian].
- [7] Ponomarenko, I. V., Koneva, O. A., & Altukhova, O. B. (2016). Molekulyarnye osnovy etiopatogeneza i kliniki endometrioza [Molecular basis of pathogenesis and clinical endometriosis]. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya*, (19), 11-16. [in Russian].
- [8] Podgaec, S., Dias Junior, J. A., Chapron, C., Oliveira, R. M., Baracat, E. C., & Abrão, M. S. (2010). Th1 and Th2 immune responses

- related to pelvic endometriosis. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 56(1), 92-98. <https://doi.org/10.1590/s0104-42302010000100022>
- [9] de Campos, G. Y., Oliveira, R. A., Oliveira-Brito, P., Roque-Barreira, M. C., & da Silva, T. A. (2020). Pro-inflammatory response ensured by LPS and Pam3CSK4 in RAW 264.7 cells did not improve a fungistatic effect on *Cryptococcus gattii* infection. *PeerJ*, 8, Article e10295. <https://doi.org/10.7717/peerj.10295>
- [10] Kumar, S., Gupta, E., Gupta, N., Kaushik, S., Srivastava, V. K., Kumar, S., Mehta, S., & Jyoti, A. (2021). Functional role of iNOS-Rac2 interaction in neutrophil extracellular traps (NETs) induced cytotoxicity in sepsis. *Clinica Chimica Acta*, 513, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.12.004>
- [11] Ministry of Health of Ukraine. (2006, April 06). Pro zatverdzhennia ta vprovadzhenia medyko-tekhnologichnykh dokumentiv zi standartyzatsii medychnoi dopomohy pry henitalnomu endometriozii [On Approval and implementation of the medical and technological documents on standardizing the management of genital endometriosis (No. 319)]. <https://www.dec.gov.ua/mtd/genitalnyj-endometrioz/>
- [12] Yelins'ka, A. M., Akimov, O. Ye., & Kostenko, V. O. (2019). Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 91(1), 80-85. <https://doi.org/10.15407/ubj91.01.080>
- [13] Akimov, O. Ye., & Kostenko, V. O. (2020). Role of NF- $\kappa$ B transcriptional factor activation during chronic fluoride intoxication in development of oxidative-nitrosative stress in rat's gastric mucosa. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 61, Article 126535. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126535>
- [14] Akimov, O. Ye., & Kostenko, V. O. (2016). Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 88(6), 70-75. <https://doi.org/10.15407/ubj88.06.070>
- [15] Zakharov, I. S., Ushakova, G. A., Demyanova, T. N., Bolotova, S. N., Fetischeva, L. E., Petrich, L. N. & Dodonova, G. H. (2016). Spaechnaya bolezn' organov malogo taza: sovremennye vozmozhnosti profilaktiki [Adhesive disease of the pelvic organs: modern prevention opportunities]. *Consilium Medicum*, 18(6), 71-73. [https://doi.org/10.26442/2075-1753\\_2016.6.71-73](https://doi.org/10.26442/2075-1753_2016.6.71-73) [in Russian].
- [16] Working group of ESGE, ESHRE and WES, Saridogan, E., Becker, C. M., Feki, A., Grimbizis, G. F., Hummelshoj, L., Keckstein, J., Nisolle, M., Tanos, V., Ulrich, U. A., Vermeulen, N., & De Wilde, R. L. (2017). Recommendations for the Surgical Treatment of Endometriosis. Part 1: Ovarian Endometrioma. *Human Reproduction Open*, 2017(4), Article hox016. <https://doi.org/10.1093/hropen/hox016>
- [17] Miller, J. E., Ahn, S. H., Marks, R. M., Monsanto, S. P., Fazleabas, A. T., Koti, M., & Tayade, C. (2020). IL-17A Modulates Peritoneal Macrophage Recruitment and M2 Polarization in Endometriosis. *Frontiers in Immunology*, 11, Article 108. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00108>
- [18] Burns, K. A., Thomas, S. Y., Hamilton, K. J., Young, S. L., Cook, D. N., & Korach, K. S. (2018). Early Endometriosis in Females Is Directed by Immune-Mediated Estrogen Receptor  $\alpha$  and IL-6 Cross-Talk. *Endocrinology*, 159(1), 103-118. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00562>
- [19] Hudson, Q. J., Ashjaei, K., Perricos, A., Kuessel, L., Husslein, H., Wenzl, R., & Yotova, I. (2020). Endometriosis Patients Show an Increased M2 Response in the Peritoneal CD<sup>14</sup><sup>low</sup>/CD68<sup>low</sup> Macrophage Subpopulation Coupled with an Increase in the T-helper 2 and T-regulatory Cells. *Reproductive Sciences*, 27(10), 1920-1931. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00211-9>
- [20] Shamarakova, M. V., Adamyan, L. V., Asaturova, A. V., Ezhova, L. S., Zaitsev, N. V., Yurova, M. V., & Martirosyan, Ya. O. (2018). Seromutsinoznye opukholi yaichnikov i endometrioz u zhenshchin reproduktivnogo vozrasta [Seromucinous ovarian tumors and endometriosis in reproductive-aged women]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (7), 84-91. <https://doi.org/10.18565/aig.2018.7.84-91> [in Russian].
- [21] Kielbik, M., Szulc-Kielbik, I., & Klink, M. (2019). The Potential Role of iNOS in Ovarian Cancer Progression and Chemoresistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(7), Article 1751. <https://doi.org/10.3390/ijms20071751>
- [22] Yeo, S. G., Won, Y. S., Lee, H. Y., Kim, Y. I., Lee, J. W., & Park, D. C. (2013). Increased Expression of Pattern Recognition Receptors and Nitric Oxide Synthase in Patients with Endometriosis. *International Journal of Medical Sciences*, 10(9), 1199-1208. <https://doi.org/10.7150/ijms.5169>
- [23] Yu, J., Chen, L. H., Zhang, B., & Zheng, Q. M. (2019). The modulation of endometriosis by lncRNA MALAT1 via NF- $\kappa$ B/iNOS. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 23(10), 4073-4080. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_201905\\_17908](https://doi.org/10.26355/eurrev_201905_17908)
- [24] Dhall, S., Coksaygan, T., Hoffman, T., Moorman, M., Lerch, A., Kuang, J. Q., Sathyamoorthy, M., & Danilkovitch, A. (2018). Viable cryopreserved umbilical tissue (vCUT) reduces post-operative adhesions in a rabbit abdominal adhesion model. *Bioactive Materials*, 4(1), 97-106. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.09.002>