

## ВЛИЯНИЕ ПРОГЕСТАГЕНОВ И ТОКОФЕРОЛА НА СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ

Игорь Дмитриевич САФРОНОВ<sup>1,2</sup>, Виталий Михайлович КУЛЕШОВ<sup>2</sup>, Ольга Михайловна ГОРБЕНКО<sup>1</sup>,  
Аля Петровна ШВАЮК<sup>1</sup>, Александр Николаевич ТРУНОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

<sup>2</sup>ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава  
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Обследовано 67 женщин в первом триместре беременности, 35 пациенток с привычным невынашиванием с клиникой угрозы прерывания беременности и 32 женщины с физиологическим течением беременности. Установлено, что в патогенезе привычного невынашивания беременности значимую роль играют иммуноэндокринные и метаболические нарушения в их взаимосвязи. Комплексное использование прогестагенов и антиоксидантных препаратов в профилактике и лечении привычного невынашивания беременности ранних сроков приводит к уменьшению выявленных нарушений и создает условия для успешного развития беременности.

**Ключевые слова:** невынашивание беременности, цитокины, перекисное окисление липидов, токоферол, прогестерон, дидрогестерон.

Привычное невынашивание беременности является одной из наиболее сложных медико-социальных проблем современного акушерства и гинекологии: частота данной патологии в структуре репродуктивных потерь достаточно высока, а лечение крайне затруднительно и, зачастую, малоэффективно, так как в большинстве случаев не удается точно установить этиопатогенетические факторы, препятствующие развитию беременности [1].

Известно, что у пациенток с невынашиванием беременности часто выявляют недостаточность лютеиновой фазы, обусловленную низким содержанием прогестерона [2], который опосредованно через Т-лимфоциты ингибирует реакцию отторжения плода [3]. В настоящее время установлено, что при физиологическом течении беременности, начиная с ранних сроков, определяется преобладание цитокинов, определяющих развитие иммунного ответа по Th2-опосредованному пути, которые, блокируя реакции клеточного иммунитета, способствуют инвазии трофобласта, развитию беременности [4]. В ряде исследований показано, что при низком содержании прогестерона происходит смещение иммунного реагирования в сторону преобладания продукции цитокинов Th1-типа, которые обладают прямым эмбриотоксическим эффектом, ограничивают инвазию трофобласта, локально активируют протромбиназу, приводя к

нарушению процессов гестации [5–7]. Однако экзогенно вводимый прогестерон обладает низкой биодоступностью и образует в организме большое число непрогестагенных метаболитов. Перспективным является применение высокоселективного прогестагена, ретроизомера прогестерона – дидрогестерона, разрешенного для применения в ранние сроки беременности [2, 5, 6]. Другим, не менее значимым, механизмом возникновения иммунных нарушений при беременности может являться окислительный стресс, деструктивный эффект которого представляет собой важный фактор развития воспалительных и аутоиммунных процессов. Для защиты от цитотоксического действия окислительного стресса в организме существует система антиоксидантов, снижающих концентрацию свободных радикалов или ингибирующих окислительные реакции с их участием. При этом степень тяжести патологического процесса сопряжена с выраженностью дисбаланса в соотношении про- и антиоксидантов [8]. Таким образом, изучение состояния окислительного стресса при осложнении гестации и возможности коррекции его деструктивного потенциала с помощью антиоксидантов является важной научной задачей.

Цель исследования – изучить влияние приема высокоселективного прогестагена дидрогестерона и витамина Е на содержание интерлейкинов (ИЛ)

**Сафронов И.Д.** – д.м.н., проф., вед.н.с., проф. кафедры патологической физиологии,  
e-mail: safronov1962@mail.ru

**Кулешов В.М.** – д.м.н., проф. кафедры акушерства и гинекологии

**Горбенко О.М.** – к.б.н., ст.н.с.

**Шваюк А.П.** – к.б.н., ст.н.с.

**Трунов А.Н.** – д.м.н., проф., руководитель лаборатории иммунологии, e-mail: trunov1963@yandex.ru

1β и 4 в крови женщин с привычным невынашиванием беременности ранних сроков.

#### Материал и методы

В соответствии с целью исследования совместно с МУЗ Муниципальный центр планирования семьи и репродукции г. Новосибирска было обследовано 67 женщин в первом триместре беременности. Основную группу составили 35 пациенток с привычным невынашиванием (средний возраст  $30,6 \pm 0,74$  лет) в сроке от 5 до 16 недель с клиникой угрозы прерывания беременности, группе сравнения – 32 женщины (средний возраст  $27,8 \pm 1,02$  лет) с физиологическим течением беременности. При постановке диагноза учитывались жалобы пациентки, анамнез, данные клинического, лабораторного и ультразвукового обследований. Клинический диагноз привычного невынашивания беременности ставился при наличии 2 и более выкидышей в анамнезе. У всех пациенток было получено информированное согласие на использование данных обследования в научных целях и согласие этического комитета на проведение исследования.

Наиболее частой патологией в анамнезе пациенток были эрозии шейки матки (27,2 %), острые и хронические воспалительные заболевания придатков матки (28,2 %), острые и подострые эндометриты (5,4 %), хронический пиелонефрит (14,5 %) и цистит (3,6 %). Но на момент обследования данные заболевания находились в стадии клинической ремиссии и не оказывали влияния на изучаемые параметры.

В зависимости от лечебного подхода пациентки с привычным невынашиванием беременности были разделены на две подгруппы. В первую подгруппу были включены 18 женщин, которым был назначен дидрогестерон (Дюфастон) в дозе до 40 мг/сутки в течение 14 дней. Во второй подгруппе оказались 17 пациенток, которые совместно с дидрогестероном принимали *per os* витамин Е (D,L α-токоферола ацетат) в дозе 300 мг/сут в течение 14 дней.

Анализ содержания прогестерона в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «Lipocheck» (Bio-Rad, США). Исследование уровня α-токоферола в крови проводили с помощью

метода высокоэффективной жидкостной хроматографии [9], а активности реакций перекисного окисления липидов – спектрофотометрическим методом по содержанию малонового диальдегида (МДА) в крови [10].

Определение концентраций ИЛ-1β и ИЛ-4 в сыворотке крови выполняли методом ИФА на коммерческих тест-системах ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург) по инструкции производителя.

Полученные цифровые данные подвергнуты математическому анализу, вычислялись среднее арифметическое значение (М) и ошибка среднего арифметического значения (m). В работе использовались методы непараметрической статистики. Значимость различий вариационных рядов в связанных попарно выборках оценивалась с помощью U-критерия Манна – Уитни. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95 % ( $p < 0,05$ ) [11].

#### Результаты и обсуждение

В последние годы показано, что формирование недостаточности лютеиновой фазы у пациенток с привычным невынашиванием беременности чаще всего обусловлено гормональными нарушениями, поражением рецепторного аппарата и др. [12, 13].

Действительно, установлено, что содержание прогестерона в сыворотке крови пациенток с невынашиванием беременности ниже, чем у женщин с физиологически протекающей беременностью, в 1,37 раза (соответственно  $128,2 \pm 2,61$  и  $93,3 \pm 1,25$  нг/мл,  $p < 0,05$ ), из чего следует вывод о наличии у первых состояния прогестероновой недостаточности. Формирование такой недостаточности сопровождается, с одной стороны, нарушением регуляции иммунных взаимоотношений [3, 14], с другой – усилением проявления окислительного стресса в организме и осложнения гестации [15].

Собственные исследования в этом направлении показали, что уровень ИЛ-1β в сыворотке крови у пациенток с привычным невынашиванием беременности в 3,8 раза выше, чем у женщин с физиологически протекающей беременностью (табл. 1).

Аналогичная закономерность отмечается и для ИЛ-4, содержание которого в сыворотке крови пациенток с привычным невынашиванием беремен-

Таблица 1

Концентрация интерлейкинов, МДА и витамина Е в сыворотке крови у беременных женщин в первом триместре ( $M \pm m$ )

Показатель	Физиологическая беременность	Невынашивание беременности
Содержание ИЛ-1β (пг/мл)	$63,2 \pm 10,36$	$242,8 \pm 21,17^{**}$
Содержание ИЛ-4 (пг/мл)	$56,7 \pm 5,45$	$166,2 \pm 16,28^{**}$
Содержание МДА (нмоль/мл)	$3,03 \pm 0,09$	$4,18 \pm 0,10^*$
Содержание α-токоферола (мг/дл)	$1,54 \pm 0,07$	$1,02 \pm 0,04^*$

Примечание: отличие от величины соответствующего показателя при физиологической беременности достоверно:

\* – при  $p < 0,05$ , \*\* – при  $p < 0,01$ .

ности в 2,95 раза выше, чем у женщин с физиологически протекающей беременностью. Указанное можно расценивать как активацию регуляторных механизмов, направленную на снижение провоспалительной активности и усиление синтеза блокирующих антител.

Большой интерес для понимания патогенеза невынашивания беременности и особенностей иммунной регуляции при этом представляет рассмотрение баланса ИЛ. Такую оценку целесообразно проводить с учетом возможной патогенетической значимости ИЛ, основываясь на их про- и противовоспалительных свойствах [16]. При расчете соотношения концентраций ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-4 было установлено, что его величина у пациенток с привычным невынашиванием беременности в 1,31 раза выше аналогичного показателя при физиологической гестации (соответственно  $1,11 \pm 0,08$  и  $1,46 \pm 0,14$  у.е.,  $p < 0,05$ ).

При анализе выраженности окислительного стресса установлено, что уровень МДА в сыворотке крови при невынашивании беременности в 1,4 раза выше, а содержание витамина Е в 1,51 раза ниже, чем при физиологической гестации (табл. 1).

Учитывая тот факт, что снижение уровня прогестерона указывает на наличие патологии беременности, возникает вопрос о назначении комплексной гормональной и антиоксидантной терапии пациенткам с целью устранения выявленных нарушений [17].

Дальнейшие исследования показали, что при дополнительном назначении дидрогестерона и витамина Е у женщин с привычным невынашиванием беременности наблюдаются неравнозначные изменения уровней изучаемых показателей.

В первой подгруппе пациенток, принимавшей дидрогестерон, на фоне достоверного повышения концентрации прогестерона в крови с  $105,3 \pm 3,32$  до  $146,7 \pm 2,12$  нг/мл ( $p < 0,05$ ) наблюдается толь-

Таблица 2

*Характер изменения уровней интерлейкинов, МДА, витамина Е в крови у женщин с невынашиванием беременности при приеме дидрогестерона ( $M \pm m$ )*

Показатель	До приема	После приема
Содержание ИЛ-1 $\beta$ (пг/мл)	$215,5 \pm 10,40$	$179,8 \pm 11,03^*$
Содержание ИЛ-4 (пг/мл)	$114,0 \pm 7,75$	$110,8 \pm 6,1$
Содержание МДА (нмоль/мл)	$4,61 \pm 0,33$	$4,08 \pm 0,41$
Содержание $\alpha$ -токоферола (мг/дл)	$0,90 \pm 0,07$	$0,73 \pm 0,11$

Примечание: здесь и в табл. 3: \* – отличие от величины соответствующего показателя до приема дидрогестерона достоверно при  $p < 0,05$ .

Таблица 3

*Характер изменения уровней интерлейкинов, МДА, витамина Е в крови у женщин с невынашиванием беременности при приеме дидрогестерона и  $\alpha$ -токоферола ацетата ( $M \pm m$ )*

Показатель	До приема	После приема
Содержание ИЛ-1 $\beta$ (пг/мл)	$239,5 \pm 13,16$	$169,8 \pm 8,31^*$
Содержание ИЛ-4 (пг/мл)	$148,2 \pm 9,63$	$170,2 \pm 12,16^*$
Содержание МДА (нмоль/мл)	$3,81 \pm 0,18$	$3,32 \pm 0,09^*$
Содержание $\alpha$ -токоферола (мг/дл)	$1,15 \pm 0,067$	$1,42 \pm 0,051^*$

ко снижение в 1,2 раза уровня ИЛ-1 $\beta$  в крови ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

В то же время во второй подгруппе (дидрогестерон + витамин Е) при значимом росте содержания прогестерона в крови с  $98,1 \pm 3,41$  до  $140,7 \pm 1,71$  нг/мл ( $p < 0,05$ ) происходит достоверное снижение уровней ИЛ-1 $\beta$  в 1,41 и МДА в 1,15 раза, а также достоверное повышение концентраций ИЛ-4 в 1,15 и  $\alpha$ -токоферола в 1,23 раза ( $p < 0,05$ ) (табл. 3).

Обсуждая полученные результаты, стоит отметить, что связующим звеном иммунной и эндокринной систем на ранних сроках гестации является прогестерон-индуцированный блокирующий фактор (PIBF), который продуцируется CD56-клетками в маточно-эмбриональном пространстве в ответ на активацию рецепторов к прогестерону. Защитное влияние PFIB заключается в снижении активности естественных киллеров и лимфокин-активированных клеток, индукции синтеза регуляторных цитокинов, подавляющих процессы отторжения эмбриона и обеспечивающих нормальную инвазию трофобласта [17]. Дидрогестерон оказывает гестагенный и иммуномодулирующий эффекты, аналогичные эндогенному прогестерону, увеличивает синтез PIBF, нормализует баланс ИЛ, что, в конечном итоге, способствует пролонгированию беременности [5, 6].

В тоже время следует отметить, что на молекулярном уровне токоферолы (80 % –  $\alpha$ -токоферол, 10 % –  $\beta$  и  $\gamma$ -токоферолы) являются основными мембранными антиоксидантами, стабилизирующими клеточные структуры и создающими оптимальные условия функционирования мембранных рецепторов, ферментов и т. д. Исключительно важна функция токоферолов как модуляторов параметров иммунной функции. В процессе дифференцировки Т-клеток в тимусе витамин Е, ингибируя экспрессию CD95-лиганда, защищает их от апоптоза. Кроме того,  $\alpha$ -токоферол оказывает влияние на активность В-лимфоцитов, макрофагов, а также уровень ИЛ-1 $\beta$  и других цитокинов [18, 19]. При исследовании эффекта различных доз витамина Е (15, 150 и 1500 мг) на функцию лимфоцитов и

макрофагов было показано, что низкие и очень высокие дозы  $\alpha$ -токоферола вносят «перекос» в работу иммунных клеток. Считается, что умеренная дозировка благоприятно влияет на функцию иммунной системы [20].

#### Заключение

Обобщая полученные данные, можно сделать следующее заключение. В патогенезе привычного невынашивания беременности значимую роль играют иммуоэндокринные и метаболические нарушения в их взаимосвязи. Комплексное использование прогестагенов и антиоксидантных препаратов в профилактике и терапии привычного невынашивания беременности ранних сроков способствует улучшению иммуннометаболических взаимоотношений в организме матери и создает благоприятные условия для развития беременности.

#### Список литературы

1. Кулаков В.И., Серов В.Н., Адамян Л.В. и др. Руководство по охране репродуктивного здоровья. М., 2001. 568 с.  
*Kulakov V.I., Serov V.N., Adamyan L.V. et al. Guidelines for reproductive health. M., 2001. 568 p.*
2. Сидельникова В.М. Неполноценная лютеиновая фаза – тактика ведения пациенток с привычной потерей беременности // Гинекология. 2002. (4). 16–17.  
*Sidel'nikova V.M. Defective lutein phase – the tactics of patients with habitual pregnancy loss // Gynecology. 2002. (4). 16–17.*
3. Szekeres-Bartho J. Immunological relationship between the mother and the fetus // Int. Rev. Immunol. 2002. 21. (6). 471–495.
4. Das C., Kumar V.S., Gupta S., Kumar S. Network of cytokines, integrins and hormones in human trophoblast cells // J. Reprod. Immunol. 2002. 53. (1–2). 257–268.
5. Радзинский В.Е., Запиртова Е.Ю. Прогестеронобусловленные изменения провоспалительных цитокинов при привычном невынашивании беременности // Рус. мед. журн. 2004. (13). 25–28.  
*Radzinsky V.E., Zapertova E.Yu. Progesterone caused changes in pro-inflammatory cytokines at habitual miscarriage // Rus. med. zhurn. 2004. (13). 25–28.*
6. Тихомиров А.Л. Прогестерон-дефицитные нозологии и их коррекция. М., 2009. 15 с.  
*Tikhomirov A.L. Progesterone-deficient nosologies and their correction. M., 2009. 15 p.*
7. Makhseed M., Raghupathy R., Azizieh F. et al. Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions // Hum. Reprod. 2001. 16. (10). 2219–2226.
8. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс: прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.  
*Men'shchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. et al. Oxidative stress: prooxidants and antioxidants. M.: Slovo, 2006. 556 p.*
9. Микичур Н.И., Сафронов И.Д. Микрометод определения различных форм токоферола для оценки компенсаторных и патологических состояний организма // Проблемы оценки и прогнозирования функциональных состояний организма в прикладной физиологии. Фрунзе, 1988. 238–240.  
*Mikichur N.I. Safronov I.D. Micromethod for definitions of various forms of tocopherol to assess the organism compensatory and pathological states // Problems of assessment and prediction of the organism functional states in applied physiology. Frunze, 1988. 238–240.*
10. Yagi Y., Matsuda M., Yagi K. Formation of lipoperoxide in isolated sciatic nerve by chinoferm-ferric chelate // Experientia. 1976. 32. (7). 905–910.
11. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., 1998. 459 с.  
*Glants S. Medico-biological statistics. M., 1998. 459 p.*
12. Сидельникова В.М. Актуальные проблемы невынашивания беременности. М., 1999. 138 с.  
*Sidel'nikova V.M. Actual problems of miscarriage. M., 1999. 138 p.*
13. Bick R.L., Madden J., Heller K.B., Toofanian A. Recurrent miscarriage: causes, evaluation and treatment // Medscape Women's Health. 1998. 3. (3). 2–13.
14. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунология беременности. М., 2003. 400 р.  
*Sukhikh G.T., Van'ko L.V. Immunology of pregnancy. M., 2003. 400 p.*
15. Абрамченко В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве: Оксидантный стресс в акушерстве и его терапия антиоксидантами и антигипоксантами. СПб., 2001. 400 с.  
*Abramchenko V.V. Antioxidants and antihypoxants in obstetrics: oxidative stress in obstetrics and its treatment with antioxidants and antihypoxants. SPb., 2001. 400 p.*
16. Balkwill F. Cytokine cell biology. Oxford, 2001. 272 p.
17. Серов В.Н., Сидельникова В.М., Агаджанова А.А., Тетруашвили Н.К. Ранние потери беременности – новое понимание гормональных нарушений // Рус. мед. журн. 2003. (16). 7–10.  
*Serov V.N., Sidel'nikova V.M., Agadzhanova A.A., Tetruashvili N.K. Early pregnancy loss – a new understanding of hormonal disorders // Rus. med. zhurn. 2003. (16). 7–10.*
18. Meydani S.N., Meydani M., Blumberg J.B. et al. Vitamin E supplementation and *in vivo* immune response in healthy elderly subjects. A randomized controlled trial // J. Am. Med. Assn. 1997. 277. 1380–1386.
19. Azzi A., Stocer A. Vitamin E: non-antioxidant roles // Progress Lipid Res. 2000. 39. 231–255.
20. De la Fuente M., Carazo M., Correa R., Del Rio M. Changes in macrophage and lymphocyte functions in guinea pigs after different amounts of vitamin E ingestion // Br. J. Nutr. 2000. 84. 25–29.

## **EFFECT OF PROGESTAGENS AND TOCOPHEROL ON THE LEVELS OF CYTOKINES IN THE BLOOD OF WOMEN WITH MISCARRIAGE**

**Igor' Dmitrievich SAFRONOV<sup>1,2</sup>, Vitaly Mikhailovich KULESHOV<sup>2</sup>, Olga Mikhailovna GORBENKO<sup>1</sup>, Alja Petrovna SHVAYUK<sup>1</sup>, Aleksandr Nikolaevich TRUNOV<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Center of Clinical and Experimental Medicine SB RAMS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State Medical University  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

---

We examined 67 women in the first trimester of pregnancy. 35 women with habitual miscarriage and 32 women with physiological course of pregnancy. It is established that an important role in the pathogenesis of miscarriage are immune, endocrine and metabolic disturbances in their interrelation. Integrated use of progestogen and antioxidant drugs in the prevention and treatment of habitual miscarriage early deadlines leads to the reduction of violations and creates conditions for successful development of pregnancy.

---

**Key words:** miscarriage, cytokines, lipid peroxidation, tocopherol, progesterone, dydrogesterone.

**Safronov I.D.** — doctor of medical sciences, professor, senior researcher, professor of the chair for pathophysiology, e-mail: safronov1962@mail.ru

**Kuleshov V.M.** — doctor of medical sciences, professor of the chair for obstetrics and gynecology

**Gorbenko O.M.** — candidate of biological sciences, senior researcher

**Shvayuk A.P.** — candidate of biological sciences, senior researcher

**Trunov A. N.** — doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory for immunology, e-mail: trunov1963@yandex.ru