

*На правах рукописи*

ХОМЕНКО

Наталья Владимировна

ВЗАИМОСВЯЗЬ СИСТЕМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И  
ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ  
БЕРЕМЕННОСТИ

14.00.16 - патологическая физиология

14.00.01 - акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

НОВОСИБИРСК

2005

Работа выполнена в ГУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения Российской академии медицинских наук и в Новосибирской государственной медицинской академии Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (г. Новосибирск)

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук  
доктор медицинских наук,  
профессор

Сафронов Игорь Дмитриевич

Кулешов Виталий Михайлович

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук,  
профессор

Цирельников Николай Иванович

доктор медицинских наук

Киселева Татьяна Вячеславовна

**Ведущая организация:**

ГУ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (г. Новосибирск)

Защита состоится 29 марта 2005 г. в 16 часов на заседании диссертационного совета Д 001.048.01 в ГУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения Российской академии медицинских наук по адресу: ул. Академика Тимакова 2, г. Новосибирск, 630117. Тел / факс 8 (3832) 33-64-56

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН

Автореферат диссертации разослан 25 февраля 2005 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета,  
д.б.н.



Н.А. Пальчикова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Привычное невынашивание беременности является одной из наиболее сложных медико-социальных проблем современной гинекологии, так как частота данной патологии в структуре репродуктивных потерь достаточно высока (Сидельникова В.М., 1997; Кулаков В.И. и др., 2001; Кулешов В.М., Илизарова НА., 2004). Лечение этой патологии крайне затруднительно вследствие того, что в большинстве случаев не удается точно установить этиопатогенетические факторы, препятствующие физиологическому течению беременности.

Привычное невынашивание - полиэтиологическое осложнение беременности, в основе которого лежат эндокринные нарушения репродуктивной системы, хронический эндометрит, пороки развития матки, хромосомные, аутоиммунные и др. нарушения (Серов В.Н. и др., 1993; Савельева Г.М., 1997; Сидельникова В.М., 1999; Шехтман М.М. и др., 2001; Сухих Г.Т., Ванько Л.В., 2003; Aplin J., 1996; Carp H.etal.,2000).

При обследовании пациенток с привычным невынашиванием у 85% из них выявляют недостаточность лютеиновой фазы, обусловленную низким содержанием прогестерона (Сидельникова В.М., 2002). Прогестерон играет важную роль в развитии беременности, в частности, опосредованно через Т-лимфоциты, он ингибирует реакцию отторжения плода (Szekeres-Bartho J. 2002). Установлено, что при физиологической беременности, начиная с ранних сроков, в крови преобладают цитокины Th2 типа, которые, блокируя реакции клеточного иммунитета, способствуют развитию и инвазии трофобласта (Das C. et al., 2002; Soriano D. et al., 2003). Причем особая роль отводится способности Th2 продуцировать ИЛ-4, влияющий на поляризацию Т-хелперов в направлении Th2, переключение синтеза иммуноглобулинов на **IgG1 и IgE** классы (Balkwill F., 2001). При низком содержании прогестерона иммунный ответ матери на трофобласт смещается в сторону преобладания продукции цитокинов **Th1 типа (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6,  $\gamma$ IFN)**, которые обладают не только прямым эмбриотоксическим эффектом, но так же ограничивают инвазию трофобласта и способствуют прерыванию беременности в первом триместре (Makhseed M. et al., 2001).

Другой характерной чертой патогенеза гомеостатических нарушений при осложнении беременности является окислительный стресс, оказывающий влияние на состояние иммунных реакций и других адаптивных механизмов в организме женщины (Абрамченко В.В., 2001; Якорева И.Г., 2003; Little R.E., Gladen B.C., 2000; Bendich A., 2001). Установлено, что реакция организма на молекулярном уровне в ответ на действие патогенных факторов внутренней и внешней среды характеризуется усилением активности перекисного окисления липидов, играющего ведущую роль в деструктивных мембранно-клеточных повреждениях при патологии (Сафронов И.Д., 1999; Зенков Н.К. и др., 2001; Wiseman H. et al., 1996; Halliwell B., 1996). В норме их активность контролируются антиоксидантной системой, которая защищает целостность клеточных мембран от разрушительного действия окислительных реакций (Владимиров Ю.А. и др., 1991; Надиров Н.К., 1991).

Поэтому возникает необходимость в оценке активности реакций перекисного окисления липидов и гуморального иммунитета у женщин с привычным невынашиванием беременности с целью разработки новых, этиопатогенетически обоснованных, терапевтических подходов коррекции возникающих нарушений.

**Цель исследования:** изучить состояние про- и антиоксидантного баланса и показателей иммунитета у женщин с привычным невынашиванием беременности в динамике гормональной и антиоксидантной терапии.

#### **Задачи исследования.**

1. Изучить содержание половых гормонов (прогестерона и эстрадиола) в крови у женщин с привычным невынашиванием беременности в первом триместре.

2. Оценить активность реакций перекисного окисления липидов (по уровню малонового диальдегида) в крови у женщин с привычным невынашиванием беременности в первом триместре.

3. Изучить содержание жирорастворимых антиоксидантов ( $\beta$ -каротина, ретинола,  $\alpha$ -токоферола) в крови у женщин с привычным невынашиванием беременности в первом триместре.

4. Оценить состояние реакций иммунитета (по уровню циркулирующих иммунных комплексов и балансу интерлейкина-1 $\beta$  и интерлейкина-4) в крови у женщин с привычным невынашиванием беременности в первом триместре.

5. Проанализировать *характер* изменений про- и антиоксидантного баланса и иммунитета у женщин с привычным невынашиванием беременности в динамике гормональной (дидрогестерон) и антиоксидантной (ретинол, токоферол) терапии.

Научная новизна исследования. Впервые при комплексной оценке механизмов развития невынашивания беременности в первом триместре было обнаружено, что одним из звеньев патогенеза является нарушение иммунных реакций адаптивной регуляции в системе "мать-плод", приводящих к развитию дисбаланса в цитокиновой, про- и антиоксидантной системах на уровне целостного организма. Установлено, что при привычном невынашивании беременности в условиях высокой активности перекисного окисления липидов отмечается депрессия антиоксидантной системы и дисрегуляция иммунных реакций.

Показано, что у пациенток с привычным невынашиванием беременности в качестве патогенетической терапии обосновано комплексное использование прогестагенов (дидрогестерона) и антиоксидантных препаратов. Воздействие гормональной терапии на иммунные реакции при привычном невынашивании беременности способствует усилению активности Th2 класса цитокинов (интерлейкин-4) и снижению интерлейкина-1 $\beta$  в сыворотке крови. Антиоксидантная терапия обеспечивает направленную регуляцию активности реакций перекисного окисления липидов и снижает риск развития окислительного стресса

Научно-практическая значимость работы. Полученные в настоящем диссертационном исследовании данные позволяют расширить существующие научные представления о патогенетической роли и значимости участия реакций перекисного окисления липидов и иммунитета в механизмах нарушения гестации. Чрезмерная активация перекисного окисления липидов, нарушения структуры и функции клеточных мембран в системе "мать-плод" могут являться одним из ведущих звеньев патогенеза невынашивания беременности в первом триместре.

Выявленная несостоятельность адаптивных механизмов в организме женщин при привычном невынашивании беременности в первом триместре на действие патогенных факторов позволяет рекомендовать включение в комплексную терапию гормональных (дидрогестерон) и антиоксидантных препаратов (ретинол, токоферол) при подготовке и ведении беременности у женщин с отягощенным

акушерским анамнезом. Результаты исследования внедрены в лечебный процесс Муниципального центра планирования семьи и репродукции (г.Новосибирск), а также используются в курсе лекций на кафедре акушерства и гинекологии педиатрического факультета Новосибирской государственной медицинской академии МЗ РФ.

Положения, выносимые на защиту.

1. Развитие беременности у женщин с привычным невынашиванием в первом триместре сопровождается снижением содержания прогестерона, жирорастворимых антиоксидантов, развитием дисбаланса интерлейкинов и увеличением продуктов перекисного окисления липидов в крови, что является проявлением механизмов нарушения регуляции гестационного процесса.

2. Комплексное использование прогестагенов (дидрогестерона) и антиоксидантных препаратов в терапии пациенток с привычным невынашиванием беременности способствует усилению активности Th2 класса цитокинов (интерлейкина-4) и снижению интенсивности реакций перекисного окисления липидов в крови, что уменьшает риск патологической гестации в первом триместре.

Апробация работы. Основные положения работы были доложены и обсуждены на V Российском форуме "Мать и дитя" (Москва, 2003), научно-практической конференции, посвященной 65-летию кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета НГМА (Новосибирск, 2003), Всероссийской конференции "Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные и клинические аспекты" (Новосибирск, 2004), научно-практической конференции, посвященной 65-летию ОКБ "Новые методы диагностики, лечения и управления в -медицине" (Новосибирск, 2004), XIV научно-практической конференции "Актуальные вопросы современной медицины" (Новосибирск, 2004).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ.

Объем и структура диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, собственных результатов, обсуждения, выводов и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 115 страниц машинописного текста и иллюстрирована 17

таблицами и 14 рисунками. Список литературы включает 239 источников, из них 105 отечественных и 134 иностранных.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Клиническая характеристика обследованных пациенток.** В соответствии с целью и задачами исследования было обследовано 87 женщин в первом триместре беременности. Основную группу составили 55 пациенток с привычным невынашиванием беременности (ср. возраст  $30,6 \pm 0,74$  лет) в сроках от 5 до 14 недель с клиникой угрозы прерывания беременности; группу сравнения - 32 женщины (ср. возраст  $25,8 \pm 1,02$  лет) с физиологической беременностью. Обследование и лечебные мероприятия проводилось в МУЗ Муниципальный центр планирования семьи и репродукции города Новосибирска (главный врач О.Ф. Чернякина).

При постановке диагноза учитывались: жалобы пациентки, анамнез, данные клинического, лабораторного и ультразвукового обследования. Клинический диагноз привычного невынашивания беременности выставляли при 2 и более выкидышах в анамнезе.

Наиболее частой патологией в анамнезе пациенток основной группы и группы сравнения были: эрозии шейки матки 5 (9,2%) и 3 (9,4%); острые и хронические воспалительные заболевания придатков матки у 5 (9,2%) и 2 (6,2%); острые и подострые эндометриты у 3 (5,4%) и 1 (3,1%); хронический пиелонефрит у 8 (14,5%) и 3 (9,4%), а также хронический цистит у 2 (3,6%) и 1 (3,1%) соответственно. У всех пациенток на момент обследования заболевания находились в стадии клинической ремиссии и не оказывали влияния на изучаемые параметры.

В зависимости от лечебного подхода все пациентки с привычным невынашиванием беременности и клиническими симптомами угрожающего самопроизвольного выкидыша были разделены на две подгруппы. Первая подгруппа - 20 (36,4%) пациенток, которым проводилась симптоматическая терапия (Магне-В6 по 2 таблетки 3 раза в день в течение 14 дней, свечи с папаверином по 1 свече per rectum на ночь 14 дней, но-шпа по 2 таблетки 3 раза в день в течение 14 дней). Во вторую подгруппу были включены 35 (63,6%) пациенток, которым на фоне симптоматической терапии был назначен

дидрогестерон (дюфастон, Solvay Pharma) в дозе до 40 мг/сутки в течение 14 дней. Причем в этой подгруппе 17 женщин совместно с дидрогестероном принимали дополнительно рег ос токоферол-ацетат (300 мг/сут) и ретинол-ацетат (6600 МЕ/сут). Назначенные препараты разрешены для применения Министерством здравоохранения Российской Федерации.

Исследования проводились до начала терапии и через 72 часа после ее окончания.

Специальные методы исследования. Анализ баланса половых стероидных гормонов осуществляли по определению содержания прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови с использованием тест-системы ИФА «Lipocheck» (Bio-Rad, США).

Оценку активности реакций ПОЛ проводили по уровню малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови с помощью спектрофотометрического анализа по методу Y. Yagi et al. (1976).

Исследование показателей антиоксидантной защиты в крови включало: определение содержания жирорастворимых антиоксидантов ( $\beta$ -каротина, ретинола,  $\alpha$ -токоферола,  $\alpha$ -токоферола-ацетата и  $\gamma$ -токоферола в сыворотке крови) проводился с помощью ВЭЖХ на отечественном, микроколоночном хроматографе "Милихром" по методу Микичур Н.И., Сафронов И.Д. (1988).

Анализ состояния гуморального звена иммунитета (определение циркулирующих иммунных комплексов) проводили методом жидкостной преципитации 4% ПЭГ-600 (Константинова Н.А. и др., 1986), а исследование содержания ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-4 - с помощью тест-систем ИФА «Pgo-Cop» (Россия).

Полученные результаты обрабатывались с помощью пакета стандартных программ Statistica for Windows (5.5). Полученный материал был обработан с помощью методов вариационной статистики путем расчета средней арифметической ( $M$ ), стандартной ошибки среднего ( $m$ ). Данные в таблицах представлены в виде  $M \pm m$ . Различия показателей рассчитывали методом разностной статистики по  $t$  - тесту для зависимых величин и считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Проводили корреляционный анализ с определением коэффициента линейной корреляции Пирсона ( $r$ ).



Все результаты клинических исследований, представленные в диссертации, получены, обработаны и проанализированы лично автором.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы показано, что причины формирования недостаточности лютеиновой фазы у пациенток с привычным невынашиванием беременности чаще всего обусловлены гормональными, иммунологическими нарушениями, поражением рецепторного аппарата и др. (Цирельников Н.И., 1980; Кулаков В.И., 1996; Сидельникова В.М., 1999; Page K. R., 1993; Yen S.S. et al., 1999).

Поэтому на начальном этапе исследования было проведено изучение содержания половых гормонов в крови у беременных для выявления особенностей их взаимоотношений в течение гестационного периода первого триместра.

При анализе половых гормонов (таблица 1) у беременных с привычным невынашиванием было обнаружено, что уровень эстрадиола в сыворотке крови у них в 7,56 раза ниже по сравнению с физиологически протекающей беременностью.

При анализе содержание прогестерона в сыворотке крови, обнаружено его снижение на 27,3% у пациенток с привычным невынашиванием беременности, из чего следует предположить формирование у них состояния прогестероновой недостаточности.

Таблица 1

Концентрация прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови у беременных женщин в первом триместре (M±m).

Показатели	Физиологическая беременность (n=32)	Невынашивание беременности (n=55)	P
Прогестерон (нг/мл)	128,2±2,61	93,3±1,25	< 0,05
Эстрадиол (пг/мл)	804,7±3,19	106,4±1,17	< 0,001

В группе пациенток с физиологическим течением беременности увеличение содержания прогестерона в сыворотке крови носит прогрессирующий характер. Так, например, в сроки 9-10 недель уровень прогестерона в крови у них на 43,2% выше, чем в срок 6-7 недель ( $p < 0,05$ ). В тоже время у пациенток с привычным невынашиванием беременности статистически достоверного увеличения уровня

прогестерона в крови в сроки от 6 до 10 недель беременности не наблюдается (рис.1).

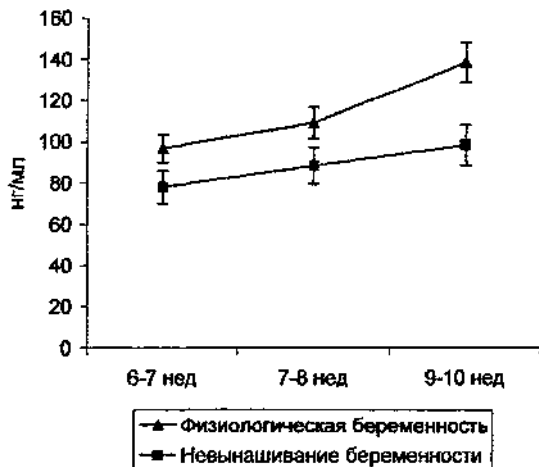


Рис.1. Динамика концентрации прогестерона в сыворотке крови у беременных женщин в первом триместре.

Учитывая тот факт, что при беременности первый этап синтеза прогестерона (превращение ацетата в холестерол) происходит в организме матери, дальнейшие этапы (образование прегненолона и прогестерона) в I триместре - в желтом теле яичника, а с 3-4 месяца - в митохондриях трофобласта. При этом к плоду поступает всего 1/4-1/5 часть от общего количества прогестерона, т.е. плод не принимает прямого участия в биосинтезе прогестерона, однако гормон быстро метаболизируется в его тканях. Содержание прогестерона в крови матери прогрессирующе растет, возрастая в 2 раза к 7-8 неделе, а затем постепенно повышается до 37-38 недель. Снижение уровня прогестерона указывает на наличие патологии беременности и требует назначения гормональной терапии. Выработка прогестерона полностью прекращается лишь при далеко зашедших дегенеративных изменениях в плаценте (Михнина Е.А., 1995; Lauscock J.F., Wise P.H., 1996).

Особая роль прогестерона при гестации отводится регуляции иммунных взаимоотношений в системе "мать-плод" (Szekeres-Bartho J. 2002). Поэтому следующий этап настоящей работы был посвящен изучению состояния реакций иммунитета (по уровню циркулирующих иммунных комплексов и балансу

интерлейкинов) у пациенток с привычным невынашиванием беременности в первом триместре. По мнению ряда авторов, тестирование уровней циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) является важным диагностическим критерием состояния гуморального иммунитета при патологической беременности и может использоваться в качестве его маркера (Константинова Н.А. 1996; Логинов С.И. и др., 1999; Зубжитская Л.Б. и др., 1999).

Проведенные исследования показали, что у женщин с привычным невынашиванием беременности содержание ЦИК достоверно выше, чем у женщин с физиологически протекающей беременностью (рис. 2). Так, если у последних уровень ЦИК в сыворотке крови составил  $81,2 \pm 4,61$  усл.ед. то при привычном невынашивании беременности он был равен  $128,8 \pm 4,72$  усл. ед. ( $p < 0,05$ ).

Высокое содержание ЦИК в крови у женщин с привычным невынашиванием беременности, по всей вероятности, свидетельствует о выраженном иммунологическом напряжении на уровне организма и отражает функциональное состояние его молекулярно-клеточных механизмов иммунной защиты.

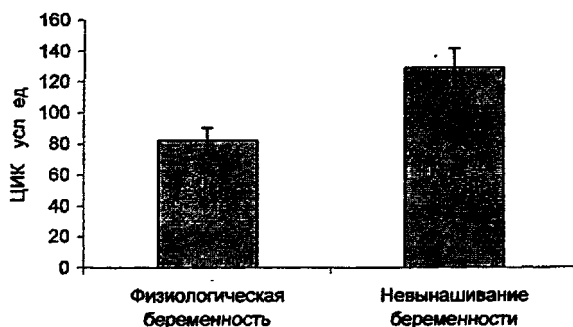


Рис.2. Содержания ЦИК в сыворотке крови у беременных женщин в первом триместре.

Вся совокупность клеточных реакций элиминации антигена, вовлекающих макрофаги, Т-лимфоциты и фагоциты, при которых нет необходимости в пролиферации и дифференцировке Т-лимфоцитов, может считаться первой фазой иммунного ответа. Она тесно связана со следующей, второй фазой, которая начинается на уровне пролиферирующих Т-лимфоцитов и определяет основное

направление в последующих реакциях организма на патоген, когда начинают включаться клеточные или гуморальные пути иммуногенеза.

Собственные исследования в этом направлении показали, что уровень **ИЛ-1 $\beta$**  в сыворотке крови у женщин с привычным невынашиванием беременности в 3,15 раза выше, чем при физиологической гестации (таблица 2).

Таблица 2

Концентрация интерлейкинов (**ИЛ-1 $\beta$** , **ИЛ-4**) в сыворотке крови у беременных женщин в первом триместре

Показатели	$\Phi$ (M $\pm$ m). ическая беременность (n=32)	Невынашивание беременности (n=55)	P
ИЛ-1 $\beta$ (пг/мл)	77,2 $\pm$ 10,36	242,8 $\pm$ 6,17	< 0,001
ИЛ-4 (пг/мл)	56,7 $\pm$ 5,45	166,2 $\pm$ 7,28	< 0,001

Аналогичная закономерность отмечается и для содержания ИЛ-4 в сыворотке крови, уровень которого у женщин с привычным невынашиванием беременности в 2,95 раза выше по сравнению с нормальной беременностью.

Большой интерес для понимания патогенеза невынашивания беременности и особенностей иммунной регуляции при ней представляет рассмотрение баланса интерлейкинов. Причем такую оценку целесообразно проводить с учетом возможной патогенетической значимости ИЛ, основываясь на их про- и противовоспалительных свойствах (Balkwill F., 2001). Действительно, при расчете соотношения провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов было установлено, что коэффициент **[ИЛ-1 $\beta$ ] / [ИЛ-4]** у женщин с привычным невынашиванием беременности превышает в 1,17 раз аналогичный показатель у женщин с физиологической беременностью.

В последние годы показано особое значение нарушения регуляции в системе про- антиоксиданты в патогенезе развития осложнений беременности (Айламазян Э.К., 2000; Абрамченко В.В., 2001).

Полученные результаты свидетельствуют, что активность реакций ПОЛ при невынашивании беременности значительно выше, чем при физиологической гестации (рис. 3).

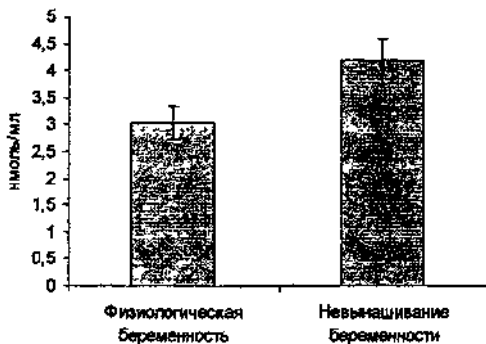


Рис.3. Содержания МДА в сыворотке крови у беременных женщин.

Подтверждением этого является достоверное превышение в 1,4 раза концентрации МДА в крови у пациенток с привычным невынашиванием, по сравнению с аналогичными показателями у женщин с физиологической беременностью ( $4,18 \pm 0,10$  и  $3,03 \pm 0,09$  нмоль/мл соответственно,  $p < 0,05$ ).

При анализе состояния антиоксидантного баланса было установлено, что средний уровень р-каротина в сыворотке крови у женщин с физиологической беременностью достоверно выше в 1,48 раза, чем у женщин с привычным невынашиванием беременности. Аналогичная закономерность отмечалась и при оценке содержания ретинола, средняя концентрация которого в крови при нормальной беременности в 1,43 раза выше по сравнению с патологическим течением беременности (таблица 3).

Таблица 3

Концентрация  $\beta$ -каротина, ретинола,  $\alpha$ - и  $\gamma$ -токоферола,  $\alpha$ -токоферола ацетата в сыворотке крови у беременных женщин в первом триместре ( $M \pm m$ ).

Показатели	Физиологическая беременность (n=32)	Невынашивание беременности (n=55)	P
$\beta$ -каротин (мкг%)	39,89±2,49	26,88±1,47	< 0,05
Ретинол (мкг%)	58,85±2,72	41,03±1,41	< 0,05
$\alpha$ -токоферол(мг%)	1,54±0,07	1,02±0,039	< 0,05
$\alpha$ -токоферол ацетат (мг%)	0,20±0,03	0,11±0,008	< 0,001
$\gamma$ -токоферол (мг%)	0,25±0,03	0,17±0,010	-

При оценке содержания токоферолов ( $\alpha$ -токоферола,  $\gamma$ -токоферола,  $\alpha$ -токоферола-ацетата) были получены следующие результаты: содержание токоферолов в сыворотке крови у женщин с физиологической беременностью достоверно превышало аналогичные показатели в группе женщин с привычным невынашиванием беременности. Так, средний уровень  $\alpha$ -токоферола у женщин с физиологической беременностью был в 1,51 раза выше, чем у женщин с привычным невынашиванием беременности ( $p < 0,05$ ). Подобная закономерность была установлена и для  $\alpha$ -токоферола-ацетата. У женщин с физиологически протекающей беременностью наблюдается значительное увеличение токоферолов, что подтверждает их значимость в поддержании антиоксидантного баланса, а также в регуляции метаболических процессов в системе "мать-плацента-плод", способствующих сохранению высокого репродуктивного потенциала.

При проведении корреляционного анализа (рис. 4) для выяснения силы, направленности и достоверности взаимосвязей между изучаемыми показателями у женщин с привычным невынашиванием беременности были обнаружены не только прямые зависимости между уровнями ИЛ-1 $\beta$  и МДА, ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-4,  $\alpha$ -токоферолом и  $\gamma$ -токоферолом,  $\alpha$ -токоферолом и ретинолом, но и обратные - между ИЛ-1 $\beta$  и  $\gamma$ -токоферолом, ЦИК и ретинолом, МДА и  $\alpha$ -токоферолом.

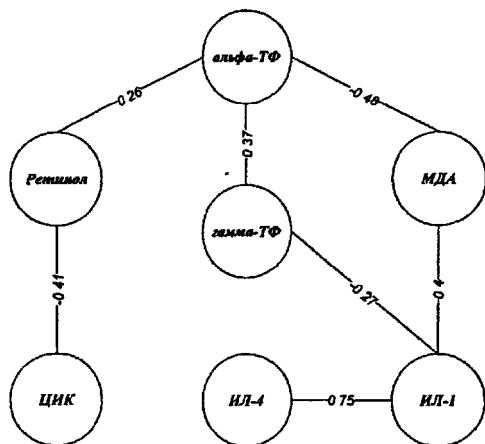


Рис.4. Корреляционные связи между показателями активности реакций ПОЛ, антиоксидантной системы и активности иммунитета у женщин с привычным невынашиванием беременности ( $p < 0,05$ )

Данный факт свидетельствует о наличии тесной взаимосвязи между состоянием реакций ПОЛ и гуморального иммунитета при патологии беременности.

Обобщая полученные результаты можно предположить, что при невынашивании беременности в организме женщин на фоне дисбаланса половых гормонов (прогестерона, эстрадиола) происходит изменение активности иммунных реакций и реакций ПОЛ. Причем усиление последних тесно связано с уровнем жирорастворимых антиоксидантов в организме. Полученные данные свидетельствуют, что патогенетическими условиями развития патологической беременности могут являться: во-первых, формирование состояния дисбаланса половых гормонов (прогестероновая недостаточность). Во-вторых, развитие окислительного стресса и дефицита жирорастворимых антиоксидантов ( $\beta$ -каротина, ретинола, токоферолов) и, в-третьих, с изменением активности иммунных реакций в сторону Th1-типа, что может оказывать негативное влияние на процессы иммунных взаимодействий в системе мать-плод.

Поэтому следующий этап исследований был посвящен вопросу влияния гормональных и антиоксидантных препаратов на состояние иммунных реакций и ПОЛ при привычном невынашивании беременности.

В зависимости от лечебного подхода все беременные основной группы были разделены на две подгруппы с симптоматической и гормональной терапией. Во всех анализируемых подгруппах до и после окончания лечения оценивали состояние системы про- и антиоксиданты, а также активность иммунной системы.

Полученные данные свидетельствуют, что при проведении как симптоматической, так и гормональной терапии у пациенток с невынашиванием беременности наблюдается повышение половых гормонов по сравнению с исходным уровнем. Однако у пациенток с симптоматической терапией после лечения уровень прогестерона оставался ниже нормативных значений ( $128,2 \pm 2,61$  нг/мл). В тоже время концентрация прогестерона у пациенток с привычным невынашиванием беременности на фоне гормональной терапии повысилась с  $97,2 \pm 1,94$  нг/мл до  $146,7 \pm 6,11$  нг/мл, а эстрадиола - с  $98,3 \pm 1,67$  пг/мл до  $716,7 \pm 16,67$  пг/мл ( **$p < 0,05$** ).

Известно, что в присутствии достаточного количества прогестерона Т-лимфоциты продуцируют прогестерон-индуцированный блокирующий фактор (PIBF), а иммунные эффекты PIBF затрагивают как клеточные, так и гуморальные иммунные механизмы, оказывающие влияние на синтез цитокинов (Makhseed M. et al., 2001). Во время физиологической беременности прогестерон контролирует переход от abortогенного доминирования цитокинов Th1 к благоприятствующему беременности преобладанию цитокинов Th2 (Raghupathy, R. et al., 1996; Szekeres-Bartho J., 2002). Следовательно, воздействие прогестерона на иммунную систему беременной сводится к тому, что достаточные концентрации прогестерона препятствуют отторжению зародыша.

Данные иммунологического обследования показали, что при проведении гормональной терапии у женщин с привычным невынашиванием беременности в динамике лечения содержание ИЛ-4 увеличилось на 14,2%, а уровень ЦИК и ИЛ-1 $\beta$  достоверно снизился на 19,1% и 29,1% соответственно (таблица 4). В динамике терапии происходит уменьшение соотношения ИЛ-1 $\beta$  / ИЛ-4 в 1,61 раза.

Таблица 4.

Концентрация интерлейкинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4) в сыворотке крови у пациенток с привычным невынашиванием беременности в динамике гормональной терапии (M±m).

Показатели	До лечения (n=18)	После лечения (n=18)	P
ИЛ-1 $\beta$ (пг/мл)	239,5 ± 13,16	169,8 ± 8,31	< 0,05
ИЛ-4 (пг/мл)	148,2 ± 4,63	170,2 ± 5,16	< 0,05
ЦИК (усл ед)	125,2 ± 8,01	101,4 ± 5,09	< 0,05

В тоже время при симптоматической терапии аналогичной динамики не наблюдалось. Это свидетельствует о том, что прогестерон может внести значительный вклад в материнскую супрессию иммунитета к плоду, модулируя баланс Th1/Th2 цитокинов (Makhseed M. et al., 2001; Miyaura H., Iwata M., 2002).

При оценке уровня МДА в сыворотке крови было установлено, что его средние величины в динамике гормональной терапии не претерпевают значимых изменений (соответственно 4,63 ± 0,33 и 4,80 ± 0,42 нмоль/мл). Аналогичная закономерность наблюдалась и при анализе состояния антиоксидантной защиты. Показатели содержания  $\beta$ -каротина, ретинола,  $\alpha$ -токоферола,  $\gamma$ -токоферола,  $\alpha$ -



токоферола ацетата в сыворотке крови у женщин с привычным невынашиванием беременности в динамике гормональной терапии так же практически не изменялись.

Поэтому с целью регуляции активности реакций ПОЛ и антиоксидантной защиты у пациенток с привычным невынашиванием беременности на фоне гормональной терапии дополнительно были назначены антиоксидантные препараты (токоферол-ацетат, ретинол-ацетат).

При оценке уровня продуктов ПОЛ средняя концентрация МДА в крови у женщин с привычным невынашиванием беременности составила  $4,09 \pm 0,13$  нмоль/мл до начала сочетанной терапии (дидрогестерон + токоферол-ацетат + ретинол-ацетат). После завершения лечебных мероприятий она уменьшилась до  $3,20 \pm 0,11$  нмоль/мл ( $p < 0,05$ ).

При изучении показателей системы антиоксидантной защиты средние значения содержания жирорастворимых антиоксидантов в крови у пациенток с привычным невынашиванием беременности после окончания лечения были достоверно выше в сравнении с аналогичными показателями до начала терапии (таблица 5).

Таблица 5

Концентрации  $\beta$ -каротина, ретинола,  $\alpha$ -токоферола,  $\gamma$ -токоферола,  $\alpha$ -токоферола ацетата в сыворотке крови у пациенток с привычным невынашиванием беременности в динамике в динамике гормональной и антиоксидантной терапии ( $M \pm m$ ).

Показатель	До лечения (n=17)	После лечения (n=17)	P
$\beta$ -каротин (мкг%)	$25,5 \pm 1,78$	$34,2 \pm 2,82$	$< 0,05$
ретинол (мкг%)	$40,1 \pm 1,35$	$47,8 \pm 1,47$	$< 0,05$
$\alpha$ -токоферол (мг%)	$0,98 \pm 0,05$	$1,45 \pm 0,06$	$< 0,05$
$\alpha$ -токоферол ацетат (мг%)	$0,11 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,02$	$< 0,05$
$\gamma$ -токоферол (мг%)	$0,15 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,02$	$< 0,05$

Средние значения уровней  $\beta$ -каротина и ретинола оказались на 34,1% и 19,2% выше по сравнению с исходными величинами. Аналогичная закономерность отмечалась и при анализе различных форм витамина Б. Так, средние значения

уровней  $\alpha$ -токоферола,  $\alpha$ -токоферол ацетата и  $\gamma$ -токоферола оказались на 47,9%, 90,9% и 46,7% выше по сравнению с исходными.

Увеличение содержания жирорастворимых антиоксидантов в организме беременных в первом триместре имеет особое значение. Это связано не только высоким антиоксидантным потенциалом, но и широким спектром витаминной активности. Так, в настоящее время установлено, что процессы эмбриогенеза и морфогенеза, дифференцировки и апоптоза клеток являются ретинол-ассоциированными (Афанасьев Ю.А. и др., 1990; Ross A.C., Ternus M.E., 1993). Обнаружено эффективное воздействие ретинола на синтез иммуноглобулинов, деление и активность иммунокомпетентных клеток, что характеризует его роль в процессах неспецифической и специфической защиты организма (Stephensen C.B., 2000). Аналогичные свойства отмечены и для токоферолов, принимающих участие в функционировании генетического аппарата клетки, а также оказывающих влияние на активность Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, уровень ИЛ-1 $\beta$  и др. (Донченко Г.В. и др., 1990; Kelleher J., 1991; Devaraj S. et al., 1996; Chan W., 1996; Meydani, S.N. et al, 1997; Azzi A., Stocer A., 2000).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что включение в комплексную терапию пациенток с привычным невынашиванием беременности прогестагенов и антиоксидантов является патогенетически обоснованным мероприятием. Дополнительный прием дидрогестерона приводит к изменениям активности иммунных реакций у пациенток с невынашиванием беременности, что проявляется в снижении ЦИК, ИЛ-1 $\beta$  и увеличение уровня ИЛ-4 в крови. Включение в схему терапии токоферол-ацетата, ретинол-ацетата сопровождается значимым снижением уровня МДА и увеличением антиоксидантов в крови, что оказывает регулирующее влияние на степень активности окислительного стресса при привычном невынашивании беременности.

Особый интерес в проведенных исследованиях представили результаты оценки клинической эффективности терапии привычного невынашивания в первом триместре на исходы беременности обследуемых пациенток. Так, в подгруппе с гормональной терапией у 25 (71%) пациенток произошли срочные роды *per vias naturalis*, у 10 (28%), при доношенной беременности 38-39 недель, состоялись роды путем планового кесарева сечения по совокупности показаний. В тоже время в

подгруппе с симптоматической терапией у 2 (10%) пациенток произошли самопроизвольные выкидыши в срок 20 недель, у 2 (10%) - преждевременные роды в сроки 34-35 недель и у 2 (10%) было произведено плановое кесарево сечение. 14 (70%) пациенток данной подгруппы были родоразрешены в срок через естественные родовые пути.

Масса новорожденных в анализируемой подгруппах составила  $3296,7 \pm 89,31$  и  $2953,1 \pm 126,76$  граммов соответственно ( $p < 0,05$ ). Оценка новорожденных по шкале Апгар (Apgar V., 1952) после рождения была выше ( $p < 0,05$ ) в подгруппе пациенток, получавших гормональную терапию (8,3210,16 балла), чем у пациенток подгруппы с симптоматической терапией ( $7,31 \pm 0,12$  балла).

## ВЫВОДЫ

1. Нарушение гестации при привычном невынашивании в первом триместре имеет сильные прямые и обратные связи с развитием прогестероновой недостаточности и интерлейкинового дисбаланса у беременных, что проявляется увеличением содержания интерлейкина- $1\beta$ , циркулирующих иммунных комплексов и снижением содержания прогестерона, эстрадиола в крови,

2. Патогенетической особенностью привычного невынашивания беременности является нарушение динамического равновесия в системе про- и антиоксиданты, что проявляется увеличением в сыворотке крови уровня малонового диальдегида и снижением содержания  $\beta$ -каротина, ретинола и  $\alpha$ -токоферола

3. Дополнительный прием прогестагенов (дидрогестерон) приводит к нормализации цитокинового баланса в организме женщин с привычным невынашиванием беременности в первом триместре, что подтверждается достоверным снижением содержания интерлейкина- $1\beta$  и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови и смещением соотношения интерлейкин- $1\beta$  / интерлейкин-4 в сторону последнего.

4. Дополнительный прием антиоксидантов (токоферол-ацетата, ретинол-ацетата) приводит к снижению активности реакций перекисного окисления липидов у женщин с привычным невынашиванием беременности, что проявляется в достоверном уменьшении уровня малонового диальдегида и увеличении содержания  $\beta$ -каротина, ретинола и токоферолов в сыворотке крови.

5. Комплексное использование прогестагенов и антиоксидантных препаратов в терапии привычного невынашивания беременности способствует улучшению иммунной регуляции в системе "мать-плод", что позволяет пролонгировать беременность до доношенного срока (100%) и родоразрешить, с благоприятным исходом для матери и новорожденного.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При обследовании женщин с привычным невынашиванием беременности при подозрении на осложнение гестации целесообразно определение содержания прогестерона, эстрадиола, малонового диальдегида,  $\beta$ -каротина, ретинола,  $\alpha$ -токоферола, интерлейкина  $1\beta$ , интерлейкина 4 и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови. При наличии их патологических уровней женщины должны быть отнесены к группе высокого риска репродуктивных потерь, в силу несостоятельности механизмов адаптивной регуляции на действие патогенных факторов.

2. При подготовке и ведении беременности у женщин с привычным невынашиванием патогенетически обосновано включение в комплексную терапию гормональных и антиоксидантных препаратов:

- а) дидрогестерон (дюфастон, Solvay Pharma), суточная доза до 40 mg
- б) токоферол-ацетат, суточная доза 300 mg
- в) ретинол-ацетат, суточная доза 6600 ME

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Хоменко Н.В. Эффективность применения препарата дюфастон у пациенток с привычным невынашиванием / Н.В. Хоменко, Н.А. Илизарова, О.Ф. Чернякина // Мать и дитя: Материалы V Российского форума. - Москва, 2003. - С. 253.

2. Хоменко Н.В. Коррекция иммунного ответа препаратом прогестерона угрожающего самопроизвольного выкидыша ранних сроков / Н.В. Хоменко, Н.А. Илизарова, И.О. Маринкин, В.М. Кулешов // Актуальные проблемы перинатологии, акушерства и гинекологии: Сборник научных трудов, посвященных 65-летию кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета НГМА. - Новосибирск, 2003.- С. 87.

3. Сафронов И.Д. Активность реакций перекисного окисления липидов и уровень жирорастворимых антиоксидантов в крови у женщин с привычным

невывнашиванием беременности / И.Д. Сафронов, Н.В. Хоменко, А.Н. Трунов // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные и клинические аспекты: Материалы Всероссийской конференции. - Новосибирск, 2004.- С. 282.

4. Трунов А.Н. Изменение уровней ммунобиохимических показателей при угрозе прерывания беременности и на фоне проводимого лечения / А.Н. Трунов, В.М. Кулешов, И.Д.Сафронов, Н.В.Хоменко, Н.А. Илизарова, А.П. Шваюк, О.М. Горбенко // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные и клинические аспекты: Материалы Всероссийской конференции. - Новосибирск, 2004.- С. 299.

5. Хоменко Н.В. Состояние иммунных реакций у женщин с привычным невынашиванием беременности / Н.В. Хоменко, И.Д. Сафронов, И.Д. Трунов, В.М. Кулешов, Н.А. Илизарова // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные и клинические аспекты: Материалы Всероссийской конференции. - Новосибирск, 2004.- С. 315.

6. Илизарова Н.А. Применение дидрогестерона для поддержания успешной беременности / Н.А. Илизарова, Н.В. Хоменко, В.М. Кулешов // Новые методы диагностики, лечения и управления в медицине: Тезисы докладов научно-практической конференции, посвященной 65-летию ОКБ.- Новосибирск, 2004.- С. 76.

7. Илизарова Н.А. Антиабортивный эффект прогестерона у пациентов с привычной потерей плода. Антиабортивный эффект прогестерона у пациентов с привычной потерей плода / Н.А. Илизарова, Н.В. Хоменко, В.М. Кулешов // Актуальные вопросы современной медицины: Тезисы докладов XIV научно-практической конференции.- Новосибирск, 2004.- С. 124.

8. Кулешов В.М. Предгравидарная подготовка у пациенток с привычной потерей плода / В.М. Кулешов, Н.А. Илизарова, Н.В. Хоменко, О.Ф. Чернякина // Актуальные вопросы современной медицины: Тезисы докладов XIV научно-практической конференции. - Новосибирск, 2004.- С. 132.

Соискатель



Хоменко Н.В.

## СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АКМ — активированные кислородные метаболиты

АОС — антиоксидантная система

ИЛ - интерлейкин

ИФА - иммуноферментный анализ

МДА — малоновый диальдегид

ПОЛ — перекисное окисление липидов

ТБК - тиобарбитуровая кислота

ЦИК — циркулирующие иммунные комплексы

Th - Т-хелперы лимфоциты

Подписано в печать 18.02.05 г. Формат 60 x 84 / 16

Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 18п/05

Отпечатано в типографии издательства «Сибмедиздат» НГМА

630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Тел./факс: (3832) 25-24-29. E-mail: sibmedizdat@yandex.ru



