

*На правах рукописи*

**ДЕРГАЧЕВА ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА**

**ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ ВИТАМИНОМ D БЕРЕМЕННЫХ С  
НЕВЫНАШИВАНИЕМ И УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**

**14.01.01 — Акушерство и гинекология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

**Москва – 2017**

**Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент

**Савченко Татьяна Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

Доктор медицинских наук, профессор

**Серова Ольга Федоровна**

Институт последипломного профессионального образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства России, кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии, заведующая кафедрой

Доктор медицинский наук, профессор

**Цахилова Светлана Григорьевна**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедры акушерства и гинекологии стоматологического факультета, профессор кафедры

**Ведущая организация:**

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии».

Защита диссертации состоится «\_\_\_»\_\_\_\_\_ 2017г. в 14:00 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.072.15 на базе ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1; и на сайте: [www.rsmu.ru](http://www.rsmu.ru).

Автореферат разослан «\_\_»\_\_\_\_\_ 2017 г.

**Ученый секретарь Диссертационного совета**

доктор медицинских наук, профессор

**Хашукоева Асият Зульчифовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Невынашивание беременности остается одной из значимых проблем современного акушерства. Последние десять лет частота невынашивания беременности составляет, по данным ВОЗ, 15-20% всех беременностей и не имеет тенденции к снижению. Среди многочисленных причин невынашивания беременности важнейшую роль отводят урогенитальной инфекции [Макаров О.В. и соавт., 2014; Хашукоева А.З., 2014].

Оценка иммунологического статуса беременной с урогенитальной инфекцией является неотъемлемой частью протокола ведения этой категории пациенток [Савченко Т.Н., 2015; Серова О.Ф., 2015, Цахилова С.Г., 2010].

В последние годы большое внимание стали уделять изучению витамина D, интерес к которому витамину D возрос после открытия его новых свойств, связанные с обнаружением рецептора витамина D (Vitamin D Receptor - VDR) во многих органах и тканях, в том числе в иммунокомпетентных клетках [Simpson R., 2009]. Однако, нет данных о наличии VDR в клетках репродуктивной системы у беременных и здоровых женщин детородного возраста.

«Витамин D» – собирательный термин, которым называют эргокальциферол – D<sub>2</sub> и холекальциферол – D<sub>3</sub> – близкие по химической структуре соединения, относящиеся к жирорастворимым витаминам. Однако, витамин D<sub>3</sub> не настоящий витамин, а прогормон, который синтезируется из стероидного предшественника под действием ультрафиолетового излучения (УФ-В, 290-315 нм длина волн). Ферментативная модификация витамина D приводит к образованию гормональной формы с многообразными биологическими функциями [Янковская Л.В., 2013].

В России распространенность дефицита витамина D составляет 40-90% [Е.Л. Хазова и соавт., 2014]. В настоящее время дефицит витамина D идентифицирован как фактор риска не только развития патологии костно-мышечной системы, но и таких заболеваний как острые респираторные

вирусные инфекции, сахарный диабет 1-го типа, сердечная недостаточность, различные неопластические заболевания и другие [Абатуров А.Е., 2015; Holick M.F., 2007; Muehleisen B. et al., 2013; Roger B. et al., 2015;].

В последние годы появились исследования, в которых отмечается роль недостаточности витамина D в развитии и персистенции инфекционных агентов, а также его влияние на различные звенья иммунного ответа [Щеплягина Л.А., 2015; Arnson Y., 2007; Bikle D., 2014]. Опубликованы работы о связи дефицита витамина D с такими инфекционными заболеваниями, как туберкулез, бактериальный вагиноз, воспалительная болезнь кишечника, ВПГ-инфекция у небеременных [Снопов С.А. 2014; Choi B., 2012; Talat N., 2010] и др.

По данным ряда авторов [Мальцева Л.И., 2013; Holick MF et al., 2009; Zhang C. Et al., 2008] дефицит витамина D в значительной степени коррелирует с частотой преэклампсии, гестационного сахарного диабета и преждевременными родами.

Мультимодальные свойства витамина D, в том числе его способность влиять на иммунную систему, снижая риск бактериального или вирусного инфицирования, дает основание для изучения содержания витамина D у беременных с наличием инфекции. Однако, в литературе отсутствуют сведения об обеспеченности витамином D беременных с невынашиванием I-II триместра и урогенитальной инфекцией.

### **Цель исследования**

Оценить обеспеченность витамином D беременных с невынашиванием I-II триместра и урогенитальной инфекцией для совершенствования прогнозирования и профилактики акушерских осложнений.

### **Задачи исследования**

1. Определить наличие экспрессии гена рецептора витамина D в клетках цервикального канала у небеременных и беременных I-II триместра.

2. Проанализировать уровень витамина D в сыворотке крови при физиологически протекающей беременности и невынашивании на фоне урогенитальной инфекции.
3. Изучить клиническую характеристику обследованных беременных в зависимости от обеспеченности витамином D для выделения групп риска по дефициту витамина D.
4. Оценить течение и исход беременности у пациенток с невынашиванием при различном уровне витамина D.
5. Исследовать показатели системного и локального иммунитета у пациенток с невынашиванием беременности и урогенитальной инфекцией в зависимости от уровня витамина D.
6. Разработать тактику ведения беременных групп риска по дефициту витамина D.

### **Научная новизна**

Выявлено наличие рецепторов витамина D в клетках цервикального канала как у небеременных, так и у беременных I-III триместра.

Проведена оценка уровня витамина D у женщин с невынашиванием беременности I-II триместра и урогенитальной инфекцией и определены группы риска развития осложнений течения и исходов беременности на фоне дефицита витамина D.

Определены корреляционные связи уровня витамина D с показателями иммунитета в крови и клетках цервикального канала у беременных с невынашиванием и урогенитальной инфекцией.

Разработана тактика ведения беременных групп риска по дефициту витамина D.

### **Практическая значимость работы**

Проведенные исследования показали, что наиболее неблагоприятное влияние на течение беременности оказывает уровень витамина D, соответствующий его дефициту (уровень 25(OH)D<sub>3</sub> в крови менее 20 нг/мл).

Своевременное выявление дефицита витамина D и его коррекция позволит снизить риск невынашивания беременности на фоне урогенитальной инфекции.

На основании проведенных исследований выделены группы риска по дефициту витамина D, к которым относятся беременные с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, опорно-двигательного аппарата, нарушениями жирового обмена, частыми инфекционными заболеваниями в анамнезе и наличием инфекционно-воспалительных заболеваний гениталий.

Результаты исследования позволяют разработать тактику ведения беременных с различным уровнем витамина D.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Недостаточность обеспеченности витамином D отмечена у всех обследованных беременных. Наиболее низкий уровень витамина D определялся у беременных с невынашиванием по сравнению со здоровыми беременными.
2. Доказана клиническая значимость недостаточности и дефицита витамина D в нарушении течения и исходов гестации у беременных с невынашиванием и урогенитальной инфекцией.
3. Влияние дефицита витамина D на течение беременности у пациенток с урогенитальной инфекцией связано с участием витамина D в работе иммунокомпетентных клеток.
4. Разработана тактика ведения беременных групп риска в условиях дефицита витамина D.

### **Внедрение результатов исследования**

Полученные результаты исследования внедрены в практику работы женской консультации и отделений филиала №1 «Родильный дом №10» ГБУЗ ЦПС и Р ДЗМ и Перинатального центра ГКБ №24 ДЗМ.

Результаты исследования используются для обучения студентов, врачей-интернов, ординаторов, аспирантов на кафедре акушерства и

гинекологии лечебного факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

### **Апробация диссертации**

Полученные в ходе работы данные доложены и обсуждены на: XXIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 11-14 апреля 2016); IX Регионарном научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Сочи, 28-30 июня 2016); IX Междисциплинарной научно-практической конференции «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клиничко-лабораторная диагностика и терапия» (Санкт-Петербург, 19-20 мая 2016); XI Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 17-20 января 2017).

Апробация диссертации состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и врачей акушеров-гинекологов ГБУЗ «Городская клиническая больница №1 им. Н.И. Пирогова Департамента здравоохранения города Москвы» 23 июня 2016 г., протокол №7.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, из них 3 - в журналах, рецензируемых ВАК Минобрнауки РФ; получен патент на изобретение № 2607659: «Способ прогнозирования невынашивания беременности в первой половине гестации у женщин с урогенитальной инфекцией» от 10.01.2017.

### **Личное участие автора**

Автором лично проведена работа по клиническому и инструментальному обследованию, амбулаторному и стационарному ведению беременных, анализу клиничко-лабораторных исследований, а также статистическая обработка полученных данных и анализ результатов исследования.

## **ОБЪЕМ И СТРУКТУРА РАБОТЫ**

Диссертационная работа изложена на 114 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 122 источника, из них 61 - отечественный и 61 - зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 13 рисунками.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Данное исследование проведено на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (зав. кафедрой - д.м.н. проф. Доброхотова Ю.Э.): гинекологических отделениях ГБУЗ "ГКБ № 4 ДЗМ" (и/о главного врача - Воеводина Н.Ю.), МБУЗ «Медико-санитарная часть №33», женской консультации при филиале №1 «Родильный дом №10» ГБУЗ ЦПСиР ДЗМ (заведующий филиалом - к.м.н. Богатырев Ю.А.) и филиале ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ» - «Перинатальный центр» (заведующий филиалом – к.м.н. Оленев А.С.). Лабораторные исследования выполнены в ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского (директор - д.б.н. проф. Алешкин В.А.), лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «МГНЦ» (руководитель - д.б.н. Костюк С.В.) и лаборатории научного центра ЭФИС (заведующая лабораторией – Осипова Т.А.).

Диссертационная работа основана на результатах клинико-лабораторного обследования 106 беременных I-II триместра, из которых 76 пациенток с невынашиванием (угрозой прерывания беременности или начавшимся выкидышем) и урогенитальной инфекцией вошли в основную группу и 30 женщин с физиологическим течением гестационного процесса составили контрольную группу.

Все пациентки исследуемых групп прошли клинико-лабораторное обследование в соответствии с базовым спектром обследования беременных

женщин при физиологическом течении и привычном невынашивании в сроке до 22 недель (приказ № 572н от 01.11.2012, ред. от 12.01.16, приложение №5).

Диагноз угрозы прерывания беременности или начавшегося выкидыша был поставлен на основании жалоб на тянущие боли внизу живота, кровяные выделения из половых путей, данных объективного акушерско-гинекологического обследования и результатов УЗИ органов малого таза.

Для диагностики инфекционного фактора невынашивания беременности на базе ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского проведено: бактериоскопическое (микроскопическое исследование мазка по Граму), бактериологическое исследования. Методом ПЦР-диагностики определялось наличие следующих урогенитальных инфекций: *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealiticum*, *Ureaplasma parvum*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* в клетках цервикального канала и ДНК CMV, HSV 1 и 2 типа, EBV в крови и клетках цервикального канала.

Определение специфических иммуноглобулинов (IgG, IgM) к HSV 1,2 типов, CMV, EBV проводили иммуноферментным анализом с использованием тест-систем фирмы DSL (США).

Для выяснения особенностей иммунного статуса проводили изучение показателей иммунитета с определением концентрации цитокинов ИФН- $\gamma$ , ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, ТФР $\beta$ 1 в сыворотке крови и цитокинов ИФН- $\gamma$ , ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, Эластазы в клетках цервикального канала женщин с невынашиванием беременности в лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «МГНЦ» методом ИФА с применением иммуноферментных тест-систем «Цитокин» и «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург).

Для оценки состояния локального иммунитета проведено определение экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 методом ПЦР в режиме реального времени.

Для оценки уровня витамина D всем беременным определяли концентрацию 25гидроксивитамин D (25(OH)D<sub>3</sub>) в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в лаборатории Научного центра ЭФиС на аппарате «LIAISON» (DiaSorin, Италия).

Исследование проводилось в зимне-весеннее время года. Все женщины проживали в одинаковых климатогеографических условиях – преимущественно в г. Москва и Московской области.

Оценку уровня обеспеченности женщин витамином D проводили на основании «Классификация дефицита, недостаточности и оптимальных уровней витамина D» по данным клинических рекомендаций, разработанных Российской ассоциацией эндокринологов (2014). Минимальное допустимое значение концентрации 25(OH)D<sub>3</sub> в крови составляет 30нг/мл, недостаточность – менее 30нг/мл и дефицит – менее 20нг/мл.

Для определения наличия рецепторов в цервикальном канале к витамину D нами было обследовано 45 женщин: из них 30 небеременных и 15 беременных I-II триместров. Данное исследование проводилось в лаборатории ГБУЗ «ГКБ №31» ДЗМ (заведующая лабораторией – д.м.н., профессор Михалева Л.М.). Общая РНК была выделена из образцов гуанидин-фенол-хлороформ методом по Хомчинскому (1987), набором «РибоЗоль В» (Амплисенс, Россия), согласно прилагаемой инструкции. Концентрация и качество выделенной РНК определялась спектрофотометрически на приборе NanoDrop Lite.

Статистическую обработку данных проводили с помощью стандартного пакета программ STATISTICA версии 10.0 Для проверки статистических гипотез использовались: t-критерий Стьюдента, непараметрические критерии — критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. Анализ категориальных данных проводили с использованием критерия Хи-квадрат ( $\chi^2$ ) и точного критерия Фишера. Для оценки связи между числовыми переменными с нормальным распределением использовался линейный корреляционный анализ с расчетом коэффициента Пирсона (r). Для оценки связи между количественными и качественными признаками применялся коэффициент ранговой корреляции Кендалла ( $\tau$ ). Наличие корреляционной связи между числовыми переменными, не подчиняющихся нормальному распределению, устанавливали с помощью расчета ранговой корреляции Спирмана (rs).

Взаимосвязь показателей считалась значимой при коэффициенте корреляции  $r \geq 0.2$ . При анализе качественных признаков использовались количество наблюдений, процентные соотношения и отношения шансов (ОШ) и их 95%-го ДИ. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Мы провели исследование по определению уровня витамина D в сыворотке крови у беременных всех групп в I-II триместре гестации.

Полученные результаты показали низкий уровень витамина D у 101 (95,3%) пациентки (рис.1). Из всех обследованных женщин только у 5 (4,7%) пациенток группы контроля уровень витамина D в крови соответствовал нормальным значениям (более 30нг/мл). Анализ индивидуальных данных пациенток контрольной группы показал, что беременные с нормальным содержанием витамина D в крови принимали дополнительно к витаминным комплексам водный раствор витамина D<sub>3</sub> в течение 1-2 месяцев во время беременности до проведения исследования. В связи с чем, эти пациентки были исключены из дальнейшего анализа. Таким образом, в контрольную группу вошло 25 человек.

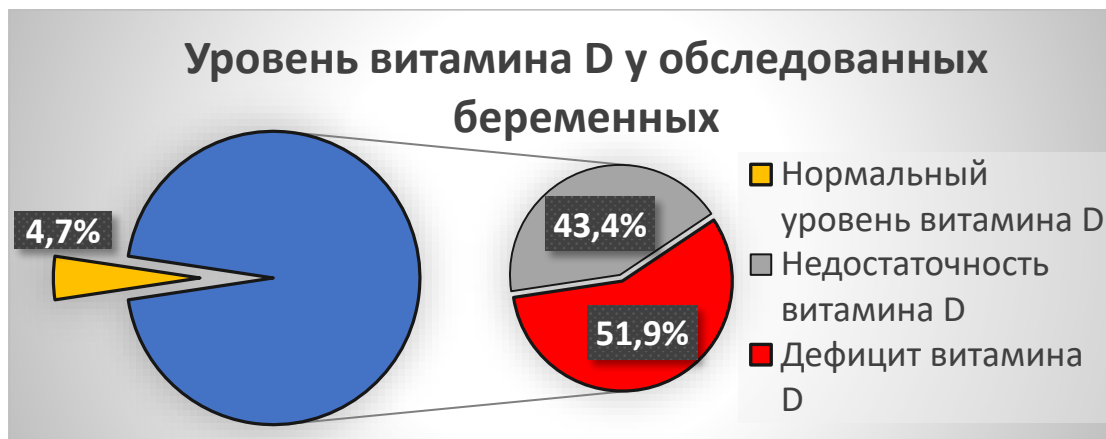


Рис. 1. Уровень витамина D у обследованных беременных.

В основной группе уровень витамина D в сыворотке крови беременных составил  $16,97 \pm 0,53$  нг/мл, что достоверно меньше, чем в группе контроля, где средний уровень витамина D был  $24,8 \pm 0,4$  нг/мл ( $t=8,2$ ,  $p < 0,0001$ ).

В зависимости от уровня витамина D (25OHD<sub>3</sub>) в крови пациентки

основной группы с невынашиванием были разделены на две подгруппы. В I-ю подгруппу вошли 46 беременных с дефицитом витамина D в крови, что соответствует уровню 25ОНD<sub>3</sub> менее 20нг/мл, во II-ю подгруппу – 30 беременных с недостаточным уровнем витамина D в крови, что соответствует уровню 25ОНD<sub>3</sub> менее 30нг/мл.

Средний возраст пациенток основной группе составил 29,3±0,71 лет, в контрольной группе – 29,1±0,8 лет. Срок беременности пациенток основной группы составил, в среднем, 14,08±0,46 недель и в группе контроля - 13,4±0,54 недель. Из проведенного анализа следует, что беременные в группах были сопоставимы по возрасту и сроку беременности ( $p>0.05$ ).

Анализ полученных данных показал, что I-ю подгруппу составили пациентки с дефицитом витамина D (<20нг/мл) со средним уровнем 25ОНD<sub>3</sub> в крови 14,5±0,5нг/мл, который был достоверно ниже по сравнению со средним уровнем витамина D у беременных II-й подгруппы с недостаточностью витамина D (20-29,9нг/мл), который составил 22,4±0,6нг/мл ( $p<0,05$ ). Средний уровень витамина D в крови у беременных контрольной группы был 24,8±0,5нг/мл, что достоверно выше, чем средний уровень витамина D в крови беременных I-й и II-й подгрупп ( $p<0,05$ ).

С целью оценки состояния здоровья пациенток с разным уровнем витамина D нами проведен сравнительный анализ данных анамнеза женщин всех исследуемых групп, который показал, что у пациенток I-й подгруппы с дефицитом витамина D достоверно чаще встречались перенесенные инфекционные заболевания (детские инфекции, ОРВИ, воспалительные заболевания органов дыхания), чем в группе контроля ( $p<0,05$ ). Во II-й подгруппе у женщин с недостаточностью витамина D также была выявлена высокая частота перенесенных инфекционных заболеваний, но при сравнении с контрольной группой не имела достоверной разницы ( $p>0,05$ ).

Необходимо отметить, что соматическая патология чаще имела место в группе беременных с дефицитом витамина D, у которых достоверно чаще ( $p<0,05$ ), по сравнению с группой контроля, в анамнезе были заболевания

желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), патологии органов зрения, заболевания опорно-двигательного аппарата, нарушение жирового обмена (НЖО), оперативные вмешательства (рис. 2).

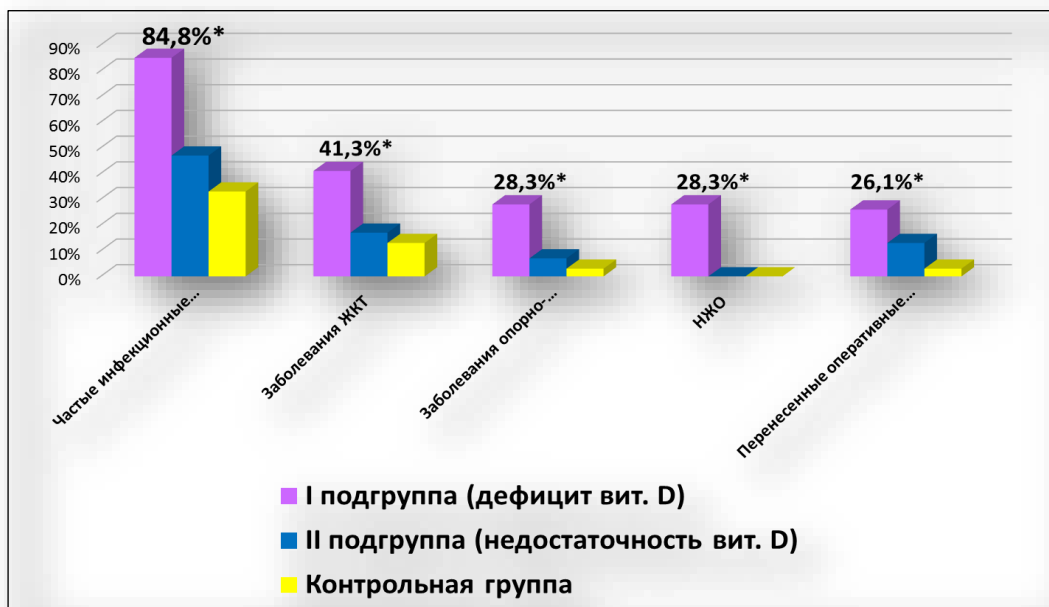


Рис. 2 Сопутствующая соматическая патология у беременных исследуемых групп.

**Примечание:** достоверность различий показателей ( $p < 0,05$ ): \* - I подгруппы от II подгруппы и контрольной группы.

Для определения возможных исходов при дефиците или недостаточности витамина D в крови был проведен ретроспективный анализ с определением отношения шансов (ОШ).

Среди экстрагенитальной патологии заболевания ЖКТ в 3,5 раза чаще встречались у беременных с дефицитом витамина D, чем с недостаточностью, и явились значимым фактором для развития дефицита витамина D (ОШ 3,52; 95% ДИ: 1,14-10,8,  $p < 0,05$ ).

Также у беременных I-й подгруппы дефицит витамина D является фактором риска заболеваний опорно-двигательного аппарата (ОШ 5,52; 95% ДИ: 1,15-26,6,  $p < 0,05$ ).

Учитывая высокую частоту нарушения жирового обмена (НЖО) в группе беременных с дефицитом витамина D, особое внимание было уделено

оценке индекса массы тела (ИМТ) беременных и распределению женщин с разными показателями ИМТ в группах. Беременные с ожирением I-II степени (ИМТ = 30-39,9) имели дефицит витамина D по сравнению с беременными II подгруппы и контрольной группы, у которых НЖО не было отмечено. Также необходимо отметить, что у 8 (17,4%) женщин с НЖО уровень витамина D соответствовал выраженному дефициту, т.е. менее 12 нг/мл, и, в среднем, составил  $10,4 \pm 0,5$  нг/мл. Учитывая данные о невозможности синтеза активного метаболита витамина D ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ) при уровне витамина D в крови ниже 12 нг/мл, беременные с ожирением являются группой высокого риска по развитию выраженного дефицита витамина D. Средний уровень витамина D в I-й подгруппе у беременных с нормальным ИМТ составил  $15,4 \pm 0,6$  нг/мл.

В ходе исследования было установлено, что частота гинекологических заболеваний у обследуемых пациенток была достоверно выше в I-й подгруппе по сравнению со II-й подгруппой и контрольной группой. Среди пациенток I-й подгруппы данная патология в анамнезе выявлялась у 19 (41,3%) пациенток, что было достоверно выше по сравнению с 5 (16,7%) пациентками II-й подгруппы ( $\chi^2=5,1$ ;  $p<0,05$ ), и 4 (16%) - группы контроля ( $\chi^2=4,74$ ;  $F=0,036$ ;  $p<0,05$ ). Эктопия шейки матки чаще наблюдалась у пациенток I-й подгруппы – у 17 (36,9%) женщин, а во II-й подгруппе – у 8 (26,7%), в группе контроля – у 6 (24%). Таким образом, такая патология как воспалительные заболевания женских половых органов является возможным исходом у пациенток с дефицитом витамина D (ОШ 3,52; 95% ДИ: 1,14-10,84,  $p<0,05$ ).

Первичное или вторичное бесплодие в анамнезе отмечалось только в I-й подгруппе – у 5 (10,9%) пациенток, в то время как во II-й подгруппе и группе контроля пациенток с бесплодием не было. Данные нарушения репродуктивной функции у пациенток I-й подгруппы были выявлены через  $2,4 \pm 1,9$  года после перенесенного ранее острого воспалительного процесса с его последующим переходом в хронический.

При изучении репродуктивной функции наибольший интерес представляло число беременностей и их исходы. Самопроизвольные

выкидыши отмечены у 30,4% женщин в I подгруппе, что достоверно больше по сравнению с 8% – в группе контроля ( $\chi^2=4,67$ ;  $F=0,038$ ;  $p<0,05$ ). Причем у 7 из 12 (58%) пациенток I-й подгруппы имелись повторные случаи самопроизвольного прерывания беременности, которые принято называть привычным невынашиванием.

Таким образом, анализ анамнестических данных у беременных с различным уровнем витамина D показал, что наиболее выраженные нарушения состояния общего и репродуктивного здоровья имели женщины с дефицитом витамина D.

Нами проведена оценка инфекционной нагрузки у беременных с различным уровнем витамина D. Полученные результаты показали, что инфекционная нагрузка у беременных I-й подгруппы с дефицитом витамина D (менее 20нг/мл) в 1,2 раза превышает таковую у пациенток II-й подгруппы с недостаточностью витамина D (менее 30нг/мл) и в 2,8 раза превышает инфекционную нагрузку пациенток группы контроля с физиологическим течением беременности ( $OR=2,78$ ; 95% ДИ: 1,65-4,69,  $p<0,05$ ). Следует отметить, что в большинстве наблюдений у беременных I-й и II-й подгрупп инфицирование было связано с наличием смешанной бактериально-вирусной инфекции: у 20 (43,4%) ( $\chi^2=15,13$ ;  $F=0,0005$ ;  $p<0,05$ ) беременных I-й подгруппы и 7 (23,3%) ( $\chi^2=6,68$ ;  $F=0,0124$ ;  $p<0,05$ ) беременных II-й подгруппы, в отличие от контрольной группы.

Учитывая, что большое влияние на течение беременности имеет активация вирусной инфекции [Бахарева И.В. и соавт., 2014; Серова О.Ф. и соавт. 2014], нами был проведен анализ по определению взаимной сопряженности между уровнем витамина D в крови и вирусной нагрузкой у беременных в группах. Установлено, что чем меньше уровень витамина D, тем больше частота наличия или активации вирусной инфекции и достоверно чаще вирусная инфекция определяется в I-й и II-й подгруппах с низким уровнем витамина D, по сравнению с контрольной группой ( $p<0,05$ ), в которой уровень витамина D приближен к нормальным значениям.

Также нами было проведено исследование микробиоценоза влагалища. Анализ микрофлоры влагалища показал, что средняя интенсивность колонизации микроорганизмов у беременных I-й подгруппы составляла  $5,4 \pm 0,3 \lg$  КОЕ/г, во II-й подгруппе -  $4,7 \pm 1,1 \lg$  КОЕ/г; в группе контроля –  $4,6 \pm 1,1 \lg$  КОЕ/г, что является подтверждением более выраженной обсемененности влагалища у беременных с дефицитом витамина D. Таким образом, общая обсемененность в группе пациенток с дефицитом витамина D (I подгруппа) была достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем во II-й подгруппе и у здоровых беременных (контрольная группа) ( $p < 0,05$ ).

С целью проведения детального анализа связи реализации инфекционно-воспалительного процесса и уровня витамина D у беременных с невынашиванием беременности, мы изучили специфический иммунитет, путем определения уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и клетках цервикального канала беременных и их связи с уровнем витамина D.

Проведенный корреляционный анализ между уровнем витамина D и цитокинами в сыворотке крови беременных I-й и II-й подгрупп показал обратную связь уровня витамина D с провоспалительным цитокином ИЛ-8 ( $R_s = -0.54$ ;  $p < 0.05$ ) и прямую связь с  $TGF\beta$  ( $R_s = 0.7$ ;  $p < 0.05$ ) в крови.  $TGF\beta$  оказывает иммуносупрессивное действие, препятствующее иммунному отторжению эмбриона и обеспечивающее дифференцировку трофобласта. Он оказывает противовоспалительное действие, подавляя синтез провоспалительных цитокинов ИЛ-1,6,8.  $TGF\beta 1$  локализуется в плаценте, децидуальной ткани и плодных оболочках [Сухих Г.Т., 2014].

Корреляционный анализ, проведенный между уровнем витамина D и про- и противовоспалительными цитокинами в клетках цервикального канала, выявил у беременных наличие взаимосвязи между показателем клеточного иммунитета в клетках цервикального канала и уровнем витамина D в сыворотке крови: ИНФ $\gamma$  имел сильную обратную связь с уровнем витамина D у пациенток в I-й подгруппе ( $r = -0.77$ ,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, проведенное исследование подтвердило участие витамина D в работе иммунной системы и у беременных с ашиванием, проявляющееся в торможении Th1-клеточной  $R_s = -0.54$ ;  $p < 0.05$  дифференцировке и производстве Th1-цитокинов, сдвиге баланса Th1-/Th2-клеточных ответов в направлении Th2-ответа, продуцирующие противовоспалительные цитокины, защищающие организм от развития инфекционного процесса [Ганковская Л.В., 2014; Доброхотова Ю.Э., 2015].

Все иммунные эффекты витамина D возможны благодаря наличию его рецептора во многих клетках органов и тканей организма. Есть данные о том, что плацента продуцирует и реагирует на витамин D, при этом витамин D функционирует как модулятор имплантации, синтеза цитокинов и иммунного ответа на инфекцию [Shin J.S. et al., 2010]. Так, активный метаболит витамина D (1,25(OH)<sub>2</sub>D) влияет на дендритные клетки децидуальной оболочки и макрофаги, которые в свою очередь взаимодействуют с трансплацентарным барьером, стимулируя Т-регуляторные клетки [Evans K.N. et al., 2004]. 1,25(OH)<sub>2</sub>D ингибирует секрецию цитокинов Th1 и повышает секрецию цитокинов Th2. Такая модуляция иммунной системы может предотвратить отторжение имплантированного эмбриона [Агаджанова А.А. 2010; Савченко Т.Н. 2015].

Учитывая свойства и распространенность рецептора витамина D (vitamin D receptor, VDR) становится интересным наличие экспрессии гена VDR в клетках цервикального канала. Мы не нашли работ по исследованию рецептора витамина D в клетках цервикального канала во время беременности и сравнению полученных данных с результатами у небеременных женщин. В связи с этим мы определили экспрессию гена VDR в клетках цервикального канала у 15 беременных из контрольной группы с физиологически протекающей беременностью и 35 здоровых небеременных женщин, которые представили группу сравнения. Результаты исследования установили наличие VDR в клетках цервикального канала обеих групп. Средние значения экспрессии гена VDR в клетках цервикального канала у беременных составили

3,4±1,0 и 5,0±0,6 у небеременных. Несмотря на отсутствие достоверности различий показателей в группах ( $p=0,154$ ), уровень экспрессии гена VDR в клетках цервикального канала был ниже у беременных по сравнению с группой сравнения, что может являться результатом физиологической иммуносупрессии во время беременности, влияющей на VDR как на фактор иммунного ответа.

Одной из задач нашего исследования явилось изучение связи уровня витамина D с течением беременности I-II триместра. Основные работы по исследованию уровня витамина D во время беременности касаются III триместра беременности и связаны с классическими свойствами витамина D, т.е. его участия в кальций-фосфорном и углеводном обменах. Единственная работа по исследованию статуса витамина D у беременных с угрозой прерывания была направлена на определение безопасных доз холекальциферола, которые могут быть рекомендованы всем беременным [Ширинян Л.В. и соавт., 2013].

В нашем исследовании проведена оценка уровня витамина D у беременных с невынашиванием в I-II триместрах и наличием урогенитальной инфекции, а также определение связи витамин-D-статуса с течением и исходами беременности.

Проведенный корреляционный анализ выявил наличие взаимосвязей между уровнем витамина D и осложнениями течения беременности. Значения витамина D, соответствующие его дефициту, имели обратную связь с угрозой прерывания беременности, образованием ретрохориальной гематомы, развитием ГСД, анемии беременных, гиперкоагуляции во время беременности ( $\tau=0,29$ ;  $p=0,001$ ). Также корреляционный анализ показал наличие обратной относительно сильной взаимосвязи уровня витамина D с ОРЗ во время первой половины гестации ( $\tau=0,5$ ;  $p<0,05$ ). Структура особенностей течения беременности в группах представлена на рис. 3.

Данные о витамине D как о факторе риска в развитии ГСД сходятся с данными мировой практики [Zhang C, Qui C, Hu FB, David RM, et al., 2008]. По

данным литературы полиморфизм генов метаболизма витамина D был связан с высвобождением инсулина и поддержанием толерантности к глюкозе.

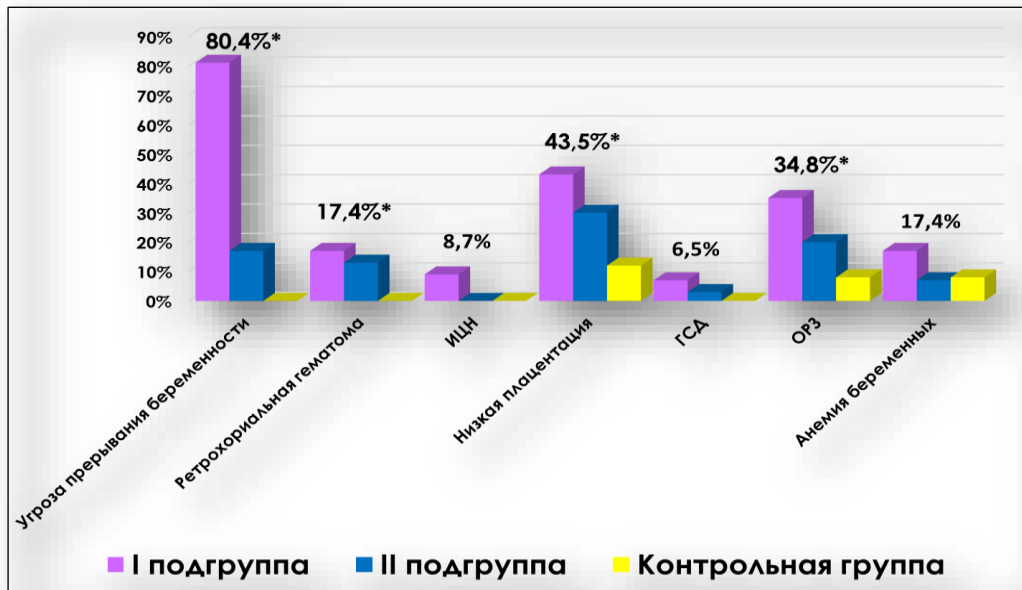


Рисунок 3. Структура особенностей течения беременности в группах.

**Примечание:** достоверность различий показателей ( $p < 0,05$ ): \* - I подгруппы от II подгруппы и контрольной группы.

Анализ исходов беременностей показал высокую частоту преждевременных родов в группе беременных с дефицитом витамина D ( $F=0,03$ ;  $p < 0,05$ ). Проведенный корреляционный анализ выявил наличие связи уровня витамина D с исходами беременности. По результатам проведенного анализа выявлена обратная связь уровня витамина D с риском преждевременных родов и родоразрешения путем операции кесарево сечения. Полученные результаты соответствуют данным литературы [Bodnar LM, 2008; Merewood A, Mehta SD, Holick MF et al., 2009] и объясняются тем фактом, что витамин D имеет иммуномодулирующее и противовоспалительное действие, регулирует синтез и функции цитокинов и нейтрофилов. Таким образом, можно предполагать его защитное действие при риске преждевременных родов.

Одним из этапов исследования явился анализ влияния приема поливитаминных препаратов (ПВП) на уровень витамина D в сыворотке крови.

По результатам проведенного исследования установлено, что концентрация 25(OH)D в сыворотке у беременных, принимающих поливитамины, достоверно выше, чем у женщин, не принимающих витамины ( $p < 0,05$ ). Несмотря на достоверность разницы полученных результатов, уровни витамина D в сыворотке не превышают значений, соответствующих гиповитаминозу. Значения 25(OH)D<sub>3</sub> в сыворотке женщин основной группы находятся в зоне недостаточности витамина D, что указывает на неспособность поливитаминных препаратов восполнить дефицит витамина D и свидетельствует о необходимости персонализированной дотации препаратами D<sub>3</sub>, начиная предгравидарной подготовки.

Результаты проведенного исследования позволяют отнести дефицит витамина D к одному из факторов, способствующему невынашиванию беременности I-II триместра, а также маркеру иммунного статуса на фоне урогенитальной бактериально-вирусной инфекции.

### **ВЫВОДЫ**

1. Клетки цервикального канала у небеременных и беременных I-II триместра экспрессируют рецепторы витамина D (VDR) и, таким образом, способны реагировать на 1,25дигидроскивитамином D.
2. У всех обследованных беременных выявлено наличие гиповитаминоза D. Однако, у женщин с физиологическим течением беременности уровень витамина D соответствовал недостаточности и составил  $24,8 \pm 2,2$  нг/мл. В то время, как у беременных с невынашиванием I-II триместра и урогенитальной инфекцией уровень витамина D был достоверно ниже ( $p < 0,0001$ ) и в большинстве случаев (61%) соответствовал дефициту, составляя в среднем  $14,5 \pm 3,5$  нг/мл.
3. Наличие заболеваний ЖКТ (ОШ 3,52; 95% ДИ: 1,14-10,8,  $p < 0,05$ ), опорно-двигательного аппарата (ОШ 5,52; 95% ДИ: 1,15-26,6,  $p < 0,05$ ), повторные инфекционные заболевания в анамнезе (ОР 2,54; 95% ДИ: 1,51-4,28,  $p < 0,05$ ), НЖО ( $F = 0,0027$ ;  $p < 0,05$ ) и наличие инфекционно-воспалительных

заболеваний гениталий (ОШ 3,52; 95% ДИ: 1,14-10,84,  $p < 0,05$ ) формируют группу риска по дефициту витамина D.

4. Доказано, что патологическое течение беременности чаще отмечается у женщин с дефицитом витамина D ( $\chi^2=29,9$ ;  $p < 0,01$ ). У беременных с дефицитом витамина D риск развития прерывания беременности был в 9 раз выше, чем у беременных с недостаточной обеспеченностью витамина D в крови (ОШ 9,11; 95% ДИ: 1,11-74,84,  $p < 0,05$ ).
5. Проведенный анализ показал наличие корреляционной связи между уровнем витамина D и показателями иммунитета на системном и локальном уровнях. У беременных с невынашиванием беременности и урогенитальной инфекцией выявлена обратная связь уровня витамина D с провоспалительным цитокином ИЛ-8 ( $R_s = -0.54$ ;  $p < 0.05$ ) и прямая - с TGF $\beta$  ( $R_s = 0.7$ ;  $p < 0.05$ ) в крови. В клетках цервикального канала отмечена сильная обратная связь между уровнем витамина D и провоспалительным цитокином ИНФ $\gamma$  ( $r = -0.77$ ,  $p < 0,05$ ).
6. Беременным группы риска по дефициту витамина D с невынашиванием и урогенитальной инфекцией помимо поливитаминных препаратов рекомендовать дотацию препаратами витамина D<sub>3</sub> (холекальциферола) в зависимости от показателей витамина D в крови.

### **Практические рекомендации**

1. Всем женщинам рекомендовать проведение исследования уровня витамина D с целью профилактики его дефицита, начиная с предгравидарной подготовки и с постановки на учет по беременности.
2. К группе риска по дефициту витамина D отнести беременных с наличием заболеваний ЖКТ, опорно-двигательного, повторных инфекционных заболеваний в анамнезе, НЖО и наличием инфекционно-воспалительных заболеваний гениталий.
3. Для поддержания достаточного уровня витамина D в крови (более 30нг/мл) помимо поливитаминных комплексов целесообразно назначать дотацию препаратами, содержащие витамин D<sub>3</sub> (холекальциферол), до 800-1200МЕ

при недостаточности витамина D (20-30 нг/мл) и 1500-4000 МЕ при дефиците витамина D (менее 20нг/мл) в соответствии с клиническими рекомендациями, разработанными РЭА (2014г)

### Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Дергачева И.А. Особенности иммунопатогенеза герпесвирусных инфекций во время беременности / Т.Н. Савченко, И.А. Дергачева, М.И. Агаева // **Вестник РГМУ**. – 2014. - № 4. – С. 18-21.
2. Дергачева И.А. Кальцитриол у женщин с урогенитальной инфекцией и невынашиванием беременности / Т.Н. Савченко, Л.А. Щеплягина, Ю.Э. Доброхотова, Т.А. Осипова, И.А. Дергачева // **Лечение и профилактика**. – 2015. - №4(16). - С. 43-46.
3. Дергачева И.А. Обеспеченность беременных витамином D в первой половине гестации / Т.Н. Савченко, И.А. Дергачева, Н.Д. Водяник // **Материалы Всероссийского конгресса с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая практика: диагностика, лечение, профилактика»**. – М., 2016. – С. 123-124.
4. Дергачева И.А. Витамин D как маркер иммунного статуса женщин с невынашиванием беременности инфекционного генеза / Т.Н. Савченко, Щеплягина Л.А., Доброхотова Ю.Э., Дергачева И.А., Агаева М.И. // **Всероссийский междисциплинарный медицинский журнал TERRA MEDICA**. – 2016. - №1-2 (83-84). - С. 43-46.
5. Дергачева И.А. Уровень витамина D у беременных женщин в зависимости от приема поливитаминных комплексов / Т.Н. Савченко, Дергачева И.А., Водяник Н.Д. // **Материалы XXIII Национального конгресса «Человек и лекарство»**. – М., 2016. – С. 105.
6. Дергачева И.А. Роль витамина D в иммунном ответе у беременных с невынашиванием инфекционного генеза / Т.Н. Савченко, Щеплягина Л.А., Доброхотова Ю.Э., Дергачева И.А., Осипова Т.А., Агаева М.И. // **Технологии живых систем**. – 2016. - №1. - т.13. – С. 68-73.
7. Дергачева И.А. Микронутриенты и беременность / Т.Н. Савченко, Дергачева И.А., Агаева М.И. // **РМЖ «Акушерство/Гинекология»** - 2016. - №15. - С. 1005-1008.
8. Дергачева И.А. Уровень витамина D у женщин с угрозой прерывания

беременности / Т.Н. Савченко, Дергачева И.А., Шаповалова Ю.О., Патахова П.Г. // Материалы XI Международного конгресса по репродуктивной медицине. – М., 2017. – С. 242.

9. Патент на изобретение № 2607659: «Способ прогнозирования невынашивания беременности в первой половине гестации у женщин с урогенитальной инфекцией» / Дергачева И.А., патентообладатели и авторы: Савченко Т.Н., Щеплягина Л.А., Доброхотова Ю.Э., Дергачева И.А., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Воропаева Е.А., Шмарина Г.В., Агаева М.И.; опубл. 10.01.2017г.