

**СПОСОБНОСТЬ ГИНИПРАЛА ИЗМЕНЯТЬ НЕГЕНОМНОЕ ВЛИЯНИЕ  
ДИДРОГЕСТЕРОНА НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ  
НЕЙТРОФИЛОВ ЖЕНЩИН НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ РЕПРОДУКЦИИ**

*И.Г. Патурова\**, *Т.В. Полежаева\*\**, *А.Н. Худяков\*\**, *О.Н. Соломина\*\**,  
*О.М. Безмельцева\*\**, *О.А. Братухина\*\*\**, *В.И. Циркин\*\*\*\*/\*\*\*\*\**

\*Кировский государственный медицинский университет  
(г. Киров)

\*\*Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН  
(Республика Коми, г. Сыктывкар)

\*\*\*Кировский областной клинический перинатальный центр  
(г. Киров)

\*\*\*\*Казанский государственный медицинский университет  
(Республика Татарстан, г. Казань)

\*\*\*\*\*Вятский государственный университет  
(г. Киров)

Изучено 30-минутное влияние (при 37 °С) преинкубации периферической крови женщин с дидрогестероном ( $5 \cdot 10^{-5}$  г/л) на свободнорадикальную активность нейтрофилов (в частности, на активацию их мембранной НАДФН-оксидазы), которую определяли на биохемиллюминиметре БХЛ-07 в течение последующих 30 мин (при 37 °С) в присутствии латекса (диаметром 0,08 мкм) и люминола. Показано, что в этих условиях дидрогестерон, судя по изменению светосуммы ( $S$ , мВ/с), максимального значения интенсивности хемиллюминесценции ( $I_{\max}$ , мВ) и времени достижения  $I_{\max}$  ( $T$ , с), повышает свободнорадикальную активность нейтрофилов беременных (I и II триместры) и рожениц (I период родов), не оказывая подобного влияния на нейтрофилы беременных в III триместре и женщин с угрозой преждевременных родов (II и III триместры). Добавление агониста бета<sub>2</sub>-адренорецепторов гинипрала ( $10^{-6}$  г/л) к смеси, помещаемой на 30 мин в биохемиллюминиметр, изменяло негеномный эффект дидрогестерона. В частности, в I триместре беременности гинипрал блокировал способность дидрогестерона повышать свободнорадикальную активность нейтрофилов, во II триместре и в родах – не препятствовал ее реализации, в III триместре даже усиливал ее, а при угрозе преждевременных родов не восстанавливал ее. Это означает, что в I триместре

---

**Ответственный за переписку:** Патурова Инна Геннадьевна, адрес: 610020, г. Киров, ул. К. Маркса, д. 112; e-mail: [paturova\\_ig@mail.ru](mailto:paturova_ig@mail.ru)

**Для цитирования:** Патурова И.Г., Полежаева Т.В., Худяков А.Н., Соломина О.Н., Безмельцева О.М., Братухина О.А., Циркин В.И. Способность гинипрала изменять негеномное влияние дидрогестерона на свободнорадикальную активность нейтрофилов женщин на разных этапах репродукции // Журн. мед.-биол. исследований. 2017. Т. 5, № 4. С. 31–41. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.4.31

беременности нейтрофилы содержат бета<sub>2</sub>-адренорецепторы, активация которых блокирует негеномный эффект дидрогестерона и тем самым уменьшает свободнорадикальную активность нейтрофилов, усиливаемую прогестероном, способствуя формированию иммунотолерантности материнского организма к антигенам плода. Во II и III триместрах беременности, а также в родах эффективность активации бета<sub>2</sub>-адренорецепторов снижается. Это объясняется переключением сопряжения бета<sub>2</sub>-адренорецепторов (с Gs-белка на Gi-белок) либо увеличением экспрессии альфа-адренорецепторов. В целом такая ситуация способствует повышению (в т. ч. за счет негеномного действия прогестерона) свободнорадикальной активности нейтрофилов, потребность в которой возрастает, особенно накануне и во время родов.

**Ключевые слова:** беременность, роды, угроза преждевременных родов, свободнорадикальная активность нейтрофилов, дидрогестерон, гинипрал.

Важную роль в регуляции иммунной реактивности организма женщины в период беременности играет прогестерон, воздействие которого обеспечивается рецепторно-опосредованным путем, в т. ч. ядерными и мембранными рецепторами. В частности, для мононуклеарных клеток обнаружены три гомологичных гена мембранных рецепторов прогестерона – mPR $\alpha$ , mPR $\beta$  и mPR $\gamma$  [1], а также прогестероновый компонент мембраны, в т. ч. PGRMC1 и PGRMC2 [2], хотя физиологическая роль этих мембранных сайтов связывания прогестерона неизвестна. На мембране нейтрофилов имеются также бета<sub>2</sub>-адренорецепторы (бета<sub>2</sub>-AP), при активации которых содержание циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) возрастает, что уменьшает содержание ионов Ca<sup>2+</sup> в цитозоле, ингибирует образование супероксида и выделение эластазы, т. е. снижает функциональную активность нейтрофилов как участников иммунитета [3, 4].

Кроме того, у нейтрофилов обнаружены ядерные рецепторы прогестерона [5], возможно, это nPR-B, nPR-A и nPR-C, как в других клетках [6]. Считается [7], что при взаимодействии с рецепторами типа nPR-B прогестерон оказывает програвидарный (антивоспалительный) эффект, а при взаимодействии с рецепторами типа nPR-A или nPR-C, наоборот, он вызывает провоспалительный процесс и тем самым способствует индукции родов или, по крайней мере, не препятствует ей. Высказано

предположение, что прогестерон, взаимодействуя с рецепторами типа nPR-B, повышает также синтез бета-AP [8] и тем самым способствует реализации бета-адренорецепторного ингибирующего механизма (бета-АРИМ), благодаря которому при беременности формируется оптимальная сократительная деятельность матки, необходимая для вынашивания плода [9–11].

Как известно, в последние годы вновь повысился интерес к прогестинам, в частности к натуральному прогестерону и к 17-альфа-гидроксипрогестерону капроату как эффективным токолитикам у женщин с укороченной шейкой матки и/или у женщин с преждевременными родами в анамнезе [12–14]. Однако эффективность прогестерона как токолитика определяется наличием в репродуктивных тканях, в т. ч. миометрии беременных женщин, ядерных рецепторов типа nPR-B [12, 15]. В связи с потребностью выявления наличия функционально активных nPR-B в организме беременных женщин мы считаем перспективным в качестве доступного объекта исследования использовать нейтрофилы периферической крови. Как уже отмечалось выше, они содержат в цитоплазме и ядре ядерные рецепторы прогестерона (nPR-B, nPR-A, nPR-C), а на поверхностной мембране – мембранные рецепторы прогестина (mPR $\alpha$ , mPR $\beta$ , mPR $\gamma$ , PGRMC1 и PGRMC2) и AP, в т. ч. бета<sub>2</sub>-AP.

На первом этапе исследований мы считали целесообразным оценить негеномный эффект

гестагенов (т. е. при непродолжительном воздействии) на функциональную активность нейтрофилов и влияние на этот эффект активации бета<sub>2</sub>-АР. Результаты этих исследований позволяют в последующем оценить геномный эффект прогестерона (т. е. при более продолжительном его воздействии), реализуемый за счет активации ядерных рецепторов nPR-B (при условии их экспрессии), о чем можно, в частности, судить по способности прогестерона изменять функциональную активность нейтрофилов и повышать синтез бета<sub>2</sub>-АР.

В связи с этим цель данной работы – оценить способность дидрогестерона за счет воздействия на его мембранные рецепторы (mPR $\alpha$ , mPR $\beta$ , mPR $\gamma$ , PGRMC1 и PGRMC2) изменять функциональную активность нейтрофилов беременных женщин, рожениц и женщин с угрозой преждевременных родов (УПР), в частности их способность образовывать свободные радикалы, т. е. проявлять свободнорадикальную активность [16], а также оценить способность гинипрала как селективного агониста бета<sub>2</sub>-АР модулировать негеномный эффект прогестерона.

#### Материалы и методы

Исследовали гепаринизированную венозную кровь беременных женщин (I, II и III триместры), рожениц (I период срочных родов) и женщин с УПР (II и III триместры), большинству из которых удалось сохранить беременность. Забор крови проводили в вакуэтти, т. е. вакуумные пробирки для забора венозной крови с Na-гепарином (производства «Ningbo Greetmed Medical Instruments Co., Ltd.» (Китай).

Для оценки влияния прогестерона на свободнорадикальную активность нейтрофилов к 0,1 мл исследуемой крови добавляли 0,05 мл раствора дидрогестерона («Дюфастон», «Эбботт Биолоджикалз Б.В.», Нидерланды), приготовленного на растворе Хенкса («БиолоТ», Россия) в конечной концентрации 50 нг/мл, или  $5 \cdot 10^{-5}$  г/л раствора, что соответствует уровню прогестерона во II триместре беременности [17], и выдерживали 30 мин при 37 °С. Далее добавляли 0,05 мл суспензии латекса диаметром 0,08 мкм («Sigma-Aldrich», Германия),

предварительно разведенной средой Хенкса в соотношении 1:10. Из полученной смеси (кровь + дидрогестерон + латекс) брали 0,1 мл и вносили в кювету с 0,9 мл раствора Хенкса и 0,2 мл люминола («Fluka BioChemika», Швейцария). Кювету помещали на 30 мин в измерительную камеру биохемиллюминметра БХЛ-07 (Россия, г. Нижний Новгород), включали режим перемешивания и термостатирования (37 °С) и оценивали свободнорадикальную активность нейтрофилов по методу Л.М. Панасенко и соавт. [18]: после автоматического вычета уровня шума регистрировали светосумму за 30 мин ( $S$ , мВ/с), определяемую как площадь под кривой свечения пробы; максимальное значение интенсивности хемиллюминесценции ( $I_{\max}$ , мВ) и время регистрации  $I_{\max}$  ( $T$ , с). При этом интенсивностью свечения других лейкоцитов пренебрегали.

Для изучения совокупного эффекта, оказываемого дидрогестероном и гинипралом, в 0,1 мл исследуемой крови добавляли 0,05 мл раствора дидрогестерона в конечной концентрации 50 нг/мл и выдерживали 30 мин при 37 °С. После чего добавляли 0,05 мл раствора гинипрала ( $10^{-6}$  г/л, «Никомед», Австрия) и 0,1 мл суспензии латекса. Из полученной смеси брали 0,2 мл и вносили в кювету с 0,8 мл раствора Хенкса и 0,2 мл люминола. Кювету помещали на 30 мин в измерительную камеру биохемиллюминметра БХЛ-07, включали режим перемешивания и термостатирования (37 °С) и оценивали свободнорадикальную активность нейтрофилов аналогично первому опыту.

Результаты исследования подвергали статистическому анализу при помощи программы «BioStat 2009 Professional 5.8.4» («AnalystSoft», США). В связи с тем что распределение показателей не соответствовало нормальному (по критерию Шапиро–Уилка), для оценки различий использовали непараметрические критерии Манна–Уитни и Уилкоксона. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Результаты исследования в таблицах и тексте представлены в виде медианы и 25-го и 75-го центилей ( $Me$ ,  $Q_1$ - $Q_3$ ) [19].

## Результаты

*30-минутное влияние дидрогестерона на свободнорадикальную активность нейтрофилов.* Установлено (см. таблицу), что 30-минутное воздействие дидрогестерона (без учета времени измерения в БХЛ-07) вызывает статистически значимый рост свободнорадикальной активности нейтрофилов у женщин в I и II триместрах беременности и у рожениц (в частности, светосумма возрастала под его влиянием соответственно до 182,3; 195,3 и 235,4 % от исходного уровня,  $p < 0,05$ ). В III триместре дидрогестерон также повышал эту активность (в т. ч. светосумму – до 120,6 %), но в меньшей степени, чем в I и II триместрах, и статистически незначимо. У женщин с УПР дидрогестерон не изменял свободнорадикальную активность (светосумма составила 99,3 %,  $p > 0,05$ ). Данные по двум другим показателям биохимиллюминесценции – максимальной интенсивности хемиллюминесценции и времени ее достижения – подтверждают результаты анализа светосуммы. Таким образом, дидрогестерон, вероятно, за счет активации мембранных рецепторов прогестерона, способен повышать свободнорадикальную активность нейтрофилов беременных (I и II триместры) и рожениц (I период родов), не оказывая подобного влияния на нейтрофилы женщин с УПР.

*Влияние гинипрала на способность дидрогестерона изменять свободнорадикальную активность нейтрофилов.* Добавление гинипрала к порции крови, которая экспонировалась до этого в течение 30 мин в присутствии дидрогестерона, по-разному отразилось на негеномном эффекте дидрогестерона в зависимости от этапа репродукции. В частности, у женщин в I триместре беременности гинипрал блокировал эффект дидрогестерона: на фоне гинипрала свободнорадикальная активность не менялась (в частности, светосумма составила 96,8 % от исходного уровня,  $p > 0,05$ ). Это означает, что гинипрал как агонист  $\beta_2$ -АР статистически значимо уменьшает способность дидрогестерона повышать свободнорадикальную активность нейтрофи-

лов, т. е. препятствует проявлению негеномного эффекта дидрогестерона.

Во II триместре гинипрал не блокировал способность дидрогестерона повышать свободнорадикальную активность: светосумма возрастала до 213,6 % от исходного уровня ( $p < 0,05$ ), т. е. до значений, наблюдаемых при действии одного дидрогестерона.

В III триместре гинипрал не только не блокировал способность дидрогестерона повышать свободнорадикальную активность, а даже усиливал ее: в присутствии гинипрала и дидрогестерона светосумма возрастала до 201,3 % от исходного уровня, что статистически значимо больше, чем увеличение светосуммы под влиянием одного дидрогестерона.

При срочных родах гинипрал не блокировал способность дидрогестерона повышать свободнорадикальную активность: он повышал светосумму статистически значимо до 345,1 % от исходного уровня; это не меньше, чем при действии одного дидрогестерона.

При УПР гинипрал не влиял на способность дидрогестерона изменять свободнорадикальную активность нейтрофилов: светосумма составила 136,6 %, что не отличается от исходного уровня ( $p > 0,05$ ) и от значения при действии одного дидрогестерона. Таким образом, при УПР активация  $\beta_2$ -АР не восстанавливает способность дидрогестерона увеличивать утраченную свободнорадикальную активность нейтрофилов.

Данные по максимальной интенсивности хемиллюминесценции и времени ее достижения подтверждают результаты исследования, основанные на анализе светосуммы хемиллюминесценции (см. таблицу).

Таким образом, характер влияния активации  $\beta_2$ -АР гинипралом ( $10^{-6}$  г/л) на негеномный эффект дидрогестерона, т. е. на его способность повышать свободнорадикальную активность нейтрофилов, зависит от этапа репродуктивного процесса и наличия УПР: в I триместре гинипрал блокирует негеномный эффект дидрогестерона, во II триместре и в родах – не препятствует его реализации, в III три-

**ДИНАМИКА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ  
ВЕНОЗНОЙ КРОВИ ЖЕНЩИН НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ РЕПРОДУКЦИИ  
ПРИ ДЕЙСТВИИ ДИДРОГЕСТЕРОНА (Д) И ДИДРОГЕСТЕРОНА  
С ГИНИПРАЛОМ (Д + Г),  $Me (Q_1-Q_3)$ , % от исходного уровня**

Показатель	Вещество, время экспозиции	Беременные женщины			Роженицы (n = 10)	Женщины с УПР (n = 15)
		I триместра (n = 14)	II триместра (n = 14)	III триместра (n = 15)		
		1	2	3		
		4	5			
S	Д, 30 мин	182,3* (152,6-326,9)	195,3* (128,0-245,4)	120,6 (70,5-286,6)	235,4* (231,3-295,2)	99,3 <sup>1,2,4</sup> (95,9-123,6)
	Д+Г, 30 мин	96,8 <sup>Д</sup> (63,8-184,9)	213,6 <sup>1</sup> (99,4-307,4)	201,3 <sup>1,Д</sup> (149,9-388,8)	345,1 <sup>1</sup> (142,2-480,5)	136,6 (102,6-313,9)
I <sub>max</sub>	Д, 30 мин	168,5* (143,1-190,0)	167,3* (102,8-295,8)	126,9 (84,4-183,8)	192 <sup>*2,3</sup> (113,0-310,2)	76,2 <sup>4</sup> (72,1-131,2)
	Д+Г, 30 мин	86,5 <sup>Д</sup> (33,1-144,6)	164,6 <sup>1</sup> (124,5-264,8)	190,9 <sup>1</sup> (123,2-353,7)	251,7 <sup>1</sup> (102,6-398,7)	139,5 <sup>1</sup> (114,7-270,9)
T	Д, 30 мин	62,4* (56,9-179,2)	52,9* (41,2-84,8)	78,3 (77,8-101,7)	88,8 (86,5-108,2)	92,2 (86,9-91,1)
	Д+Г, 30 мин	157,6 (80,3-416,3)	77,1 (67,9-107,7)	66,7 <sup>1</sup> (35,1-101,7)	61,3 <sup>1,Д</sup> (56,3-69,0)	82,1 <sup>Д</sup> (41,3-312,7)

*Примечание.* Статистически значимые отличия показателей: \* – с исходными показателями (до воздействия дидрогестерона) по критерию Манна–Уитни ( $p < 0,05$ ); <sup>Д</sup> – с показателями при воздействии только дидрогестерона по критерию Уилкоксона ( $p < 0,05$ ); <sup>1,2,3,4</sup> – с показателями указанной группы по критерию Манна–Уитни ( $p < 0,05$ ).

местре даже усиливает его. В то же время при УПР дидрогестерон сам по себе не проявляет негеномный эффект, т. е. не повышает свободнорадикальную активность нейтрофилов, а активация  $\beta_2$ -АР нейтрофилов не восстанавливает ее.

### Обсуждение

Ранее О.О. Зайцевой и соавторами было установлено [20], что 30-минутное воздействие дидрогестерона в концентрации  $5 \cdot 10^{-5}$  г/л при 37 °С (т. е. как и в нашем исследовании) повышает свободнорадикальную активность нейтрофилов беременных женщин и рожениц, но не влияет на эту активность у женщин с УПР. Эту активность авторы определяли по изменению 30-секундной хемилюминесценции нейтрофилов на биохемилюминометре БХЛ-07.

Авторы объясняют этот эффект влиянием дидрогестерона на мембранные рецепторы нейтрофила, существование которых показано в литературе [1, 2], т. е. рассматривают влияние дидрогестерона как проявление его негеномного эффекта. Наши результаты подтвердили данные исследования [20], в то же время нам удалось уточнить, что характер негеномного эффекта дидрогестерона (повышение свободнорадикальной активности нейтрофила) зависит от срока беременности: в III триместре он выражен в меньшей степени, чем в I и II. Так как экспозиция дидрогестерона была относительно непродолжительной (30 мин до введения в камеру прибора и 30 мин во время регистрации хемилюминесценции), то стимулирующий эффект дидрогестерона мы, с уче-

том данных литературы [2, 21, 22], также склонны рассматривать как проявление негеномного эффекта дидрогестерона, реализуемого за счет активации мембранных сайтов связывания прогестинов, в т. ч. мембранных рецепторов прогестина, ассоциированных с G-белком, в частности mPR $\alpha$ , mPR $\beta$ , mPR $\gamma$ , а также прогестеронового компонента мембраны – PGRMC1 и PGRMC2. В настоящее время мы не можем говорить о том, какие из перечисленных сайтов связывания прогестерона реализуют выявленный нами эффект дидрогестерона, т. к. мы не использовали селективные блокаторы соответствующих рецепторов. Как известно [23], при беременности нейтрофилы выполняют важную функцию – на фоне снижения активности Т- и В-лимфоцитов [24] они охраняют организм матери и плода от инфекции. Поэтому способность прогестерона повышать свободнорадикальную активность нейтрофилов мы расцениваем как один из компонентов механизма увеличения защитной функции нейтрофилов во время беременности. Мы можем утверждать, что прогестерон реализует свою способность негеномно, т. е. за счет активации мембранных рецепторов. Снижение этой способности в III триместре, возможно, связано с изменением экспрессии отдельных изоформ мембранных сайтов связывания прогестерона (mPR $\alpha$ , mPR $\beta$ , mPR $\gamma$ , PGRMC1 и PGRMC2). Не исключено, что выявленное нами снижение негеномного эффекта дидрогестерона в III триместре является одним из этапов подготовки организма матери к родам, т. к. позволяет усилить воспалительные процессы. Очевидно, что при УПР имеет место выраженное уменьшение способности дидрогестерона активировать свободнорадикальную активность нейтрофилов, что создает условие для индукции преждевременных родов. С этих позиций оценка влияния дидрогестерона на свободнорадикальную активность нейтрофилов может быть полезной для диагностики УПР и прогноза перехода УПР в преждевременные роды. Мы показали, что при срочных родах вновь наблюдается увеличение

способности дидрогестерона повышать свободнорадикальную активность нейтрофилов, что с физиологической точки зрения вполне оправдано, т. к. такая ситуация представляет собой один из способов повышения защиты организма от инфекции во время родового процесса. Напомним, что в родах у женщин уровень прогестерона сохраняется высоким [17], что, вероятно, препятствует возникновению инфекции при родовом процессе, длительность которого у женщин намного дольше, чем у многоплодных животных.

Итак, наши исследования указывают на то, что при 60-минутном воздействии (30 мин – предэкспозиция и 30 мин – оценка хемилюминесценции) дидрогестерон оказывает негеномный эффект на свободнорадикальную активность нейтрофилов. Задача будущих исследований – оценить способность дидрогестерона оказывать геномный эффект, т. е. за счет воздействия на ядерные рецепторы прогестерона изменять свободнорадикальную активность нейтрофилов и интенсивность синтеза бета-АР в нейтрофилах. Наличие такой способности будет указывать на сохранение в нейтрофилах рецепторов типа nPR-B и на целесообразность применения прогестинов в качестве токолитической терапии у женщин с УПР.

Нами впервые показано, что селективный агонист бета<sub>2</sub>-АР гинипрал в концентрации 10<sup>-6</sup> г/л изменяет негеномный эффект дидрогестерона в I триместре. В начальный период беременности он снижает способность дидрогестерона повышать свободнорадикальную активность. Однако во II триместре и в родах гинипрал не меняет негеномный эффект дидрогестерона, а в III триместре – повышает его. С одной стороны, эти данные указывают на наличие бета<sub>2</sub>-АР в нейтрофилах, в частности у женщин в I триместре беременности, что подтверждают данные литературы [3], согласно которым активация адреналином дозозависимо повышает содержание цАМФ, снижает содержание ионов Ca<sup>2+</sup> в цитозоле, ингибирует образование супероксида и выделение эластазы, т. е. уменьшает функциональ-

ную активность нейтрофилов как участников иммунитета. По данным этих авторов, эффект активации блокировался пропранололом, но не селективными антагонистами бета<sub>1</sub>-, альфа<sub>1</sub>- и альфа<sub>2</sub>-АР. Это доказывает, что эффект адреналина реализуется с участием бета<sub>2</sub>-АР. Так как адренорецепторы относятся к тому же суперклассу рецепторов (а именно к рецепторам, ассоциированным с G-белком), как и мембранные рецепторы прогестина [2, 21, 22], то можно предположить, что повышение уровня цАМФ в нейтрофилах снижает эффект активации прогестероновых рецепторов, который, вероятно, связан с уменьшением содержания цАМФ в нейтрофиле.

С другой стороны, наши данные показывают, что способность гинипрала блокировать негеномный эффект дидрогестерона зависит от срока беременности и наличия родовой деятельности. В частности, нами установлено, что гинипрал не блокировал эффект дидрогестерона в отношении нейтрофилов, полученных у женщин во II триместре и у рожениц, что может быть следствием снижения эффективности активации бета<sub>2</sub>-АР в этот период. У женщин в III триместре гинипрал даже увеличивал эффект дидрогестерона. Все эти особенности влияния гинипрала можно объяснить тем, что начиная со II триместра меняется эффективность активации бета<sub>2</sub>-АР, например за счет изменения сопряжения, т. е. явления

переключения (switching) бета<sub>2</sub>-АР с Gs-белка на Gi-белок, в результате чего уровень цАМФ при активации этих рецепторов будет не возрастать, а снижаться. Явление переключения установлено в отношении бета<sub>2</sub>-АР миокарда человека и животных и объясняется процессом фосфорилирования этих рецепторов [25, 26]. Не исключено, что переключение будет способствовать повышению негеномного эффекта прогестерона и тем самым – противодействовать индукции родового процесса. Мы также не исключаем, что перед родами и в родах в нейтрофилах возрастает популяция альфа-АР и снижается популяция бета<sub>2</sub>-АР.

Нами впервые показано, что у женщин с УПР гинипрал не восстанавливает способность дидрогестерона повышать утраченную свободнорадикальную активность нейтрофилов. С этих позиций введение гинипрала как токолитика у женщин с УПР не будет иметь влияние на негеномный эффект прогестерона, следовательно, не будет повышать эффективность профилактики преждевременных родов. Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения нейтрофилов в качестве индикаторов негеномного и геномного эффекта гестагенов у беременных женщин с целью диагностики УПР, прогнозирования перехода УПР в преждевременные роды и оценки эффективности применения гестагенов при токолитической терапии.

## Список литературы

1. Zen M., Ghirardello A., Iaccarino L., Tonon M., Campana C., Arienti S., Rampudda M., Canova M., Doria A. Hormones, Immune Response, and Pregnancy in Healthy Women and SLE Patients // *Swiss Med. Wkly.* 2010. Vol. 140, № 13–14. P. 187–201.
2. Thomas P., Pang Y., Dong J. Enhancement of Cell Surface Expression and Receptor Functions of Membrane Progesterin Receptor  $\alpha$  (mPR $\alpha$ ) by Progesterone Receptor Membrane Component 1 (PGRMC1): Evidence for a Role of PGRMC1 as an Adaptor Protein for Steroid Receptors // *Endocrinology.* 2014. Vol. 155, № 3. P. 1107–1119.
3. Tintinger G.R., Theron A.J., Anderson R., Ker J.A. The Anti-Inflammatory Interactions of Epinephrine with Human Neutrophils *in vitro* Are Achieved by Cyclic AMP-Mediated Accelerated Resequstration of Cytosolic Calcium // *Biochem. Pharmacol.* 2001. Vol. 61, № 10. P. 1319–1328.
4. Шилов Ю.И., Орлова Е.Г., Ланин Д.В. Адренергические механизмы регуляции фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови крыс при стрессе и введении гидрокортизона // *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2004. № 3. С. 8–13.

5. Revelli A., Mascobrio M., Tesarik J. Nongenomic Actions of Steroid Hormones in Reproductive Tissues // *Endocr. Rev.* 1998. Vol. 19, № 1. P. 3–17.
6. McDonnell D.P. Molecular Pharmacology of Estrogen and Progesterone Receptors // *Menopause: Biology and Pathobiology*. San Diego; Tokyo, 2000. P. 3–11.
7. Tan H., Yi L., Rote N., Hurd W., Mesiano S. Progesterone Receptor-A and -B Have Opposite Effects on Proinflammatory Gene Expression in Human Myometrial Cells: Implications for Progesterone Actions in Human Pregnancy and Parturition // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012. Vol. 97, № 5. P. E719–E730.
8. Gáspár R., Ducza E., Mihályi A., Márki A., Kolarovszki-Sipiczki Z., Páldy E., Benyhe S., Borsodi A., Földesi I., Falkay G. Pregnancy-Induced Decrease in the Relaxant Effect of Terbutaline in the Late-Pregnant Rat Myometrium: Role of G-Protein Activation and Progesterone // *Reproduction*. 2005. Vol. 130, № 1. P. 113–122.
9. Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Братухина О.А., Попова В.С., Зайцева О.О., Худяков А.Н., Шушканова Е.Г. Эритроциты, тромбоциты как индикаторы течения беременности, родов и состояния бета-адренорецепторного ингибирующего механизма (обзор литературы) // *Урал. мед. журн.* 2015. № 5(128). С. 15–25.
10. Циркин В.И., Володченко А.И., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Братухина О.А. Адрено- и М-холинореактивность эритроцитов женщин на протяжении репродуктивного процесса // *Вестн. Сев. (Арктич.) федер. ун-та. Сер.: Мед.-биол. науки.* 2014. № 2. С. 78–90.
11. Крысова А.В., Циркин В.И., Кунишин А.А., Хлыбова С.В., Тарлаваина М.Г., Норина С.П. Адренореактивность и осмотическая резистентность эритроцитов женщин при физиологически протекающей беременности и при наличии угрозы преждевременных родов // *Вятск. мед. вестн.* 2012. № 1. С. 19–26.
12. Norwitz E.R., Phaneuf L.E., Caughey A.B. Progesterone Supplementation and the Prevention of Preterm Birth // *Rev. Obstet. Gynecol.* 2011. Vol. 4, № 2. P. 60–72.
13. Kuon R.J., Abele H., Berger R., Garnier Y., Maul H., Schleußner E., Rath W. Progesterone for Prevention of Preterm Birth – Evidence-Based Indications // *Z. Geburtshilfe. Neonatol.* 2015. Vol. 219, № 3. P. 125–135.
14. Di Renzo G.C., Giardina I., Clerici G., Brillo E., Gerli S. Progesterone in Normal and Pathological Pregnancy // *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* 2016. Vol. 27, № 1. P. 35–48.
15. Nadeem L., Shynlova O., Matysiak-Zablocki E., Mesiano S., Dong X., Lye S. Molecular Evidence of Functional Progesterone Withdrawal in Human Myometrium // *Nat. Commun.* 2016. Vol. 7. Art. № 11565.
16. Патурова И.Г., Худяков А.Н., Зайцева О.О., Полежаева Т.В. Хемилюминесцентный анализ фагоцитарной функции лейкоцитов периферической крови женщин при беременности и в родах // *Вятск. мед. вестн.* 2015. № 2(46). С. 92–93.
17. Mitchell B.F., Taggart M.J. Are Animal Models Relevant to Key Aspects of Human Parturition? // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2009. Vol. 297, № 3. P. 525–545.
18. Панасенко Л.М., Краснова Е.И., Ефремов А.В. Клиническое значение хемилюминесцентного ответа лейкоцитов крови при коклюше // *Бюл. Сиб. отд-ния РАМН.* 2005. Т. 25, № 3. С. 44–47.
19. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., 1998. 459 с.
20. Зайцева О.О., Худяков А.Н., Соломина О.Н. Оценка прогестеронореактивности нейтрофилов при угрозе преждевременных родов // *Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VII Всерос. молодеж. науч. конф. Киров, 2015.* С. 62–65.
21. Mesiano S. Myometrial Progesterone Responsiveness // *Semin. Reprod. Med.* 2007. Vol. 25, № 1. P. 5–13.
22. Kowalik M.K., Rekawiecki R., Kotwica J. The Putative Roles of Nuclear and Membrane-Bound Progesterone Receptors in the Female Reproductive Tract // *Reprod. Biol.* 2013. Vol. 13, № 4. P. 279–289.
23. Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Полежаева Т.В., Зайцева О.О., Худяков А.Н., Соломина О.Н., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Попова В.С. Роль нейтрофилов при физиологическом течении беременности, родов и ряде акушерских осложнений // *Вестн. урал. мед. акад. науки.* 2015. № 4(55). С. 75–86.
24. Филиппова О.Е., Поповская Е.В., Шашкова Е.Ю., Щеголева Л.С. Активность лимфоидных рецепторов лимфопрлиферации и апоптоза в физиологической регуляции иммунного гомеостаза при адаптации человека к меняющимся условиям среды (обзор) // *Вестн. Сев. (Арктич.) федер. ун-та. Сер.: Мед.-биол. науки.* 2016. № 1. С. 87–99.



25. Liu R., Ramani B., Soto D., De Arcangelis V., Xiang Y. Agonist Dose-Dependent Phosphorylation by Protein Kinase A and G Protein-Coupled Receptor Kinase Regulates Beta2 Adrenoceptor Coupling to G(i) Proteins in Cardiomyocytes // *J. Biol. Chem.* 2009. Vol. 284, № 47. P. 32279–32287.

26. Woo A.Y., Song Y., Xiao R.P., Zhu W. Biased  $\beta$ 2-Adrenoceptor Signaling in Heart Failure: Pathophysiology and Drug Discovery // *Br. J. Pharmacol.* 2015. Vol. 172, № 23. P. 5444–5456.

## References

1. Zen M., Ghirardello A., Iaccarino L., Tonon M., Campana C., Arienti S., Rampudda M., Canova M., Doria A. Hormones, Immune Response, and Pregnancy in Healthy Women and SLE Patients. *Swiss Med. Wkly.* 2010, vol. 140, no. 13–14, pp. 187–201.

2. Thomas P., Pang Y., Dong J. Enhancement of Cell Surface Expression and Receptor Functions of Membrane Progesterin Receptor  $\alpha$  (mPR $\alpha$ ) by Progesterone Receptor Membrane Component 1 (PGRMC1): Evidence for a Role of PGRMC1 as an Adaptor Protein for Steroid Receptors. *Endocrinology*, 2014, vol. 155, no. 3, pp. 1107–1119.

3. Tintinger G.R., Theron A.J., Anderson R., Ker J.A. The Anti-Inflammatory Interactions of Epinephrine with Human Neutrophils *in vitro* Are Achieved by Cyclic AMP-Mediated Accelerated Resequstration of Cytosolic Calcium. *Biochem. Pharmacol.*, 2001, vol. 61, no. 10, pp. 1319–1328.

4. Shilov Yu.I., Orlova E.G., Lanin D.V. Adrenergicheskie mekhanizmy regulyatsii fagotsitarnoy aktivnosti neytrofilov perifericheskoy krovi krysi pri stresse i vvedenii gidrokortizona [Adrenergic Mechanisms of Regulation of Phagocytic Activity of Rat Peripheral Blood Neutrophils Under Stress and Hydrocortisone Administration]. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*, 2004, no. 3, pp. 8–13.

5. Revelli A., Mascobrio M., Tesarik J. Nongenomic Actions of Steroid Hormones in Reproductive Tissues. *Endocr. Rev.*, 1998, vol. 19, no. 1, pp. 3–17.

6. McDonnell D.P. Molecular Pharmacology of Estrogen and Progesterone Receptors. *Menopause: Biology and Pathobiology*. San Diego, 2000, pp. 3–11.

7. Tan H., Yi L., Rote N., Hurd W., Mesiano S. Progesterone Receptor-A and -B Have Opposite Effects on Proinflammatory Gene Expression in Human Myometrial Cells: Implications for Progesterone Actions in Human Pregnancy and Parturition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, vol. 97, no. 5, pp. E719–E730.

8. Gáspár R., Ducza E., Mihályi A., Márki A., Kolarovszki-Sipiczki Z., Páldy E., Benyhe S., Borsodi A., Földesi I., Falkay G. Pregnancy-Induced Decrease in the Relaxant Effect of Terbutaline in the Late-Pregnant Rat Myometrium: Role of G-Protein Activation and Progesterone. *Reproduction*, 2005, vol. 130, no. 1, pp. 113–122.

9. Tsirkin V.I., Anisimov K.Yu., Khlybova S.V., Dmitrieva S.L., Bratukhina O.A., Popova V.S., Zaytseva O.O., Khudyakov A.N., Shushkanova E.G. Eritrotsity, trombotsity kak indikatory techeniya beremennosti, rodov i sostoyaniya beta-adrenoretseptornogo ingibiruyushchego mekhanizma (obzor literatury) [Erythrocytes and Platelets as Indicators of Pregnancy and Labor and Condition of Beta-Adrenergic Inhibitory Mechanism (Review)]. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal*, 2015, no. 5, pp. 15–25.

10. Tsirkin V.I., Volodchenko A.I., Khlybova S.V., Dmitrieva S.L., Bratukhina O.A. Adreno- i M-kholinoreaktivnost' eritrotsitov zhenshchin na protyazhenii reproduktivnogo protsessa [Adreno- and M-Cholinergic Reactivity of Erythrocytes in Women Throughout Their Reproductive Process]. *Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. Ser.: Mediko-biologicheskie nauki*, 2014, no. 2, pp. 78–90.

11. Krysova A.V., Tsirkin V.I., Kunshin A.A., Khlybova S.V., Tarlavina M.G., Norina S.P. Adrenoreaktivnost' i osmoticheskaya rezistentnost' eritrotsitov zhenshchin pri fiziologicheskoy protekayushchey beremennosti i pri nalichii ugrozy prezhdevremennykh rodov [Adrenoreactivity and Osmotic Resistance of Erythrocytes at Normal Pregnancy and Threatened Preterm Labour]. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*, 2012, no. 1, pp. 19–26.

12. Norwitz E.R., Phaneuf L.E., Caughey A.B. Progesterone Supplementation and the Prevention of Preterm Birth. *Rev. Obstet. Gynecol.*, 2011, vol. 4, no. 2, pp. 60–72.

13. Kuon R.J., Abele H., Berger R., Garnier Y., Maul H., Schleußner E., Rath W. Progesterone for Prevention of Preterm Birth – Evidence-Based Indications. *Z. Geburtshilfe Neonatol.*, 2015, vol. 219, no. 3, pp. 125–135.

14. Di Renzo G.C., Giardina I., Clerici G., Brillo E., Gerli S. Progesterone in Normal and Pathological Pregnancy. *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.*, 2016, vol. 27, no. 1, pp. 35–48.

15. Nadeem L., Shynlova O., Matysiak-Zablocki E., Mesiano S., Dong X., Lye S. Molecular Evidence of Functional Progesterone Withdrawal in Human Myometrium. *Nat. Commun.*, 2016, vol. 7. Art. no. 11565.

16. Paturova I.G., Khudyakov A.N., Zaytseva O.O., Polezhaeva T.V. Khemilyuminestsentnyy analiz fagotsitarnoy funktsii leykotsitov perifericheskoy krovi zhenshchin pri beremennosti i v rodakh [Chemiluminescent Analysis of the Phagocytic Function of Peripheral Blood Leukocytes in Women During Pregnancy and in Labour]. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*, 2015, no. 2, pp. 92–93.

17. Mitchell B.F., Taggart M.J. Are Animal Models Relevant to Key Aspects of Human Parturition? *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2009, vol. 297, no. 3, pp. 525–545.

18. Panasenko L.M., Krasnova E.I., Efremov A.V. Klinicheskoe znachenie khemilyuminestsentnogo otveta leykotsitov krovi pri koklyushe [Clinical Significance of Chemiluminescent Response of Blood Leukocytes in Whooping Cough]. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya RAMN*, 2005, vol. 25, no. 3, pp. 44–47.

19. Glantz S. *Primer of Biostatistics*. The McGraw-Hill Companies, Inc. 1997 (Russ. ed.: Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika*. Moscow, 1998. 459 p.).

20. Zaytseva O.O., Khudyakov A.N., Solomina O.N. Otsenka progesteronoreaktivnosti neytrofilov pri ugroze prezhdevremennykh rodov [Evaluation of Progesterone Reactivity of Neutrophils at Threatened Preterm Labour]. *Voprosy fundamental'noy i prikladnoy fiziologii v issledovaniyakh studentov vuzov* [Issues of Fundamental and Applied Physiology in the Research of University Students]. Kirov, 2015, pp. 62–65.

21. Mesiano S. Myometrial Progesterone Responsiveness. *Semin. Reprod. Med.*, 2007, vol. 25, no. 1, pp. 5–13.

22. Kowalik M.K., Rekawiecki R., Kotwica J. The Putative Roles of Nuclear and Membrane-Bound Progesterone Receptors in the Female Reproductive Tract. *Reprod. Biol.*, 2013, vol. 13, no. 4, pp. 279–289.

23. Tsirkin V.I., Anisimov K.Yu., Polezhaeva T.V., Zaytseva O.O., Khudyakov A.N., Solomina O.N., Khlybova S.V., Dmitrieva S.L., Popova V.S. Rol' neytrofilov pri fiziologicheskoy techenii beremennosti, rodov i ryade akusherskikh oslozhneniy [The Role of Neutrophils in Physiological Pregnancy and Labor and Some Obstetric Complications]. *Vestnik ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*, 2015, no. 4, pp. 75–86.

24. Filippova O.E., Popovskaya E.V., Shashkova E.Yu., Shchegoleva L.S. Aktivnost' limfoidnykh retseptorov limfoproliferatsii i apoptoza v fiziologicheskoy regulyatsii immunnogo gomeostaza pri adaptatsii cheloveka k menyayushchimsya usloviyam sredy (obzor) [Activity of Lymphoid Receptors of Lymphoproliferation and Apoptosis in the Physiological Regulation of Immune Homeostasis in Human Adaptation to Changing Environmental Conditions (Review)]. *Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. Ser.: Mediko-biologicheskie nauki*, 2016, no. 1, pp. 87–99.

25. Liu R., Ramani B., Soto D., De Arcangelis V., Xiang Y. Agonist Dose-Dependent Phosphorylation by Protein Kinase A and G Protein-Coupled Receptor Kinase Regulates Beta2 Adrenoceptor Coupling to G(i) Proteins in Cardiomyocytes. *J. Biol. Chem.*, 2009, vol. 284, no. 47, pp. 32279–32287.

26. Woo A.Y., Song Y., Xiao R.P., Zhu W. Biased  $\beta_2$ -Adrenoceptor Signaling in Heart Failure: Pathophysiology and Drug Discovery. *Br. J. Pharmacol.*, 2015, vol. 172, no. 23, pp. 5444–5456.

DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.4.31

**Inna G. Paturova\***, **Tat'yana V. Polezhaeva\*\***, **Andrey N. Khudyakov \*\***,  
**Ol'ga N. Solomina\*\***, **Oksana M. Bezmel'tseva\*\***, **Ol'ga A. Bratukhina\*\*\***, **Viktor I. Tsirkin\*\*\*\*/\*\*\*\*\***

\*Kirov State Medical University  
(Kirov, Russian Federation)

\*\*Institute of Physiology, Komi Science Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences  
(Syktyvkar, Russian Federation)

\*\*\*Kirov Regional Clinical Perinatal Centre  
(Kirov, Russian Federation)

\*\*\*\*Kazan State Medical University  
(Kazan, Russian Federation)

\*\*\*\*\*Vyatka State University  
(Kirov, Russian Federation)

**THE ABILITY OF GYNIPRAL  
TO MODIFY DYDROGESTERONE'S NON-GENOMIC EFFECTS  
ON THE FREE-RADICAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS  
IN WOMEN AT DIFFERENT STAGES OF REPRODUCTION**

The paper studies a 30-minute effect (at 37 °C) of peripheral blood preincubation with dydrogesterone ( $5 \cdot 10^{-5}$  g/l) in women on the free-radical activity of neutrophils (in particular, on the activation of their membrane NADPH oxidase), which was determined using the Biochemiluminometer BChL-07 for the following 30 minutes (at 37 °C) in the presence of latex (0.08  $\mu$ m in diameter) and luminol. We have shown that under these conditions, dydrogesterone, judging by the changes in the light sum ( $S$ , mV/s), maximum intensity of chemiluminescence ( $I_{\max}$ , mV) and the time of reaching  $I_{\max}$  ( $T$ , s), increases the free-radical activity of neutrophils in pregnant women (1st and 2nd trimesters) and parturient women (1st stage of labour), without exerting such an influence on neutrophils in the 3rd trimester of pregnancy and women with threatened preterm labour (2nd and 3rd trimesters). Addition of gynipral beta<sub>2</sub>-adrenergic receptor agonist ( $10^{-6}$  g/l) to the mixture placed in the biochemiluminometer for 30 minutes changed the non-genomic effect of dydrogesterone. In particular, during the 1st trimester of pregnancy gynipral blocked the ability of dydrogesterone to increase the free-radical activity of neutrophils; in the 2nd trimester and in labour it produced no effect on this ability; during the 3rd trimester gynipral even enhanced it, while at threatened preterm labour it did not restore the ability. This means that in the 1st trimester of pregnancy, neutrophils contain beta<sub>2</sub>-adrenergic receptors, whose activation blocks the non-genomic effect of dydrogesterone and thereby reduces the free-radical activity of neutrophils, enhanced by progesterone, thereby promoting the development of maternal immune tolerance to fetal antigens. During the 2nd and 3rd trimesters of pregnancy, as well as in labour, the effectiveness of beta<sub>2</sub>-adrenergic receptor activation is reduced. This is explained by the switching of beta<sub>2</sub>-adrenergic receptor coupling (from the G<sub>s</sub> class of G-protein to the G<sub>i</sub>) or by an increase in the expression of alpha-adrenergic receptors. In general, this situation contributes to increased (including due to the non-genomic effect of progesterone) free-radical activity of neutrophils, the need for which is constantly growing, especially just before and during labour.

**Keywords:** pregnancy, labour, threatened preterm labour, free-radical activity of neutrophils, dydrogesterone, gynipral.

Поступила 05.12.2016  
Received 5 December 2016

---

**Corresponding author:** Inna Paturova, address: ul. K. Marksa 112, Kirov, 610020, Russian Federation; e-mail: paturova\_ig@mail.ru

**For citation:** Paturova I.G., Polezhaeva T.V., Khudyakov A.N., Solomina O.N., Bezmel'tseva O.M., Bratukhina O.A., Tsirkin V.I. The Ability of Gynipral to Modify Dydrogesterone's Non-Genomic Effects on the Free-Radical Activity of Neutrophils in Women at Different Stages of Reproduction. *Journal of Medical and Biological Research*, 2017, vol. 5, no. 4, pp. 31–41. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.4.31