

УДК 618.3. — 07:616 — 008.831 — 074

ЛИЗОСОМНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭНЗИМНОГО ГОМЕОСТАЗА В РАННИЕ СРОКИ ПРИ НОРМАЛЬНОЙ И ОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

В.Е. РАДЗИНСКИЙ, А.А. ОРАЗМУРАДОВ, А. КИМ, В.А. ЗАЯКИН, Ч.Е. ЕГАНОВА

Кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии
Российский университет дружбы народов
Ул. Миклухо-Маклая, 8, Медицинский факультет, 117198 Москва, Россия

В.А. ФРОЛОВ

Кафедра патологической физиологии РУДН
Российский университет дружбы народов
Ул. Миклухо-Маклая, 8, Медицинский факультет, 117198 Москва, Россия

В.А. СОБОЛЕВ, Н.Л. ИВАНОВА

Городская клиническая больница № 29
Госпитальная пл., 2, 111020 Москва, Россия

Обследовано 55 беременных в сроки гестации от 6 до 12 недель, разделенных на три группы: 20 здоровых, желавших прервать беременность методом хирургического аборта (1), 15 — с начавшимся выкидышем (2) и 20 — с неразвивающейся беременностью (3).

Целью исследования было определение активности лизосомальных ферментов в норме и при различных осложнениях в 1-м триместре беременности и их роль в формировании морфофункциональных особенностей плацентарного ложа матки и хориона.

Методы исследования: клинический, доплерометрический, биохимический — определение активности лизосомальных энзимов: N-ацетил-в-D-глюкозаминидазы (Асе), в-D-глюкуронидазы (Glu) и морфологический методы.

Выявлено достоверное снижение активности Асе в плазме крови, ткани хориона и плацентарном ложе при начавшемся выкидыше и неразвивающейся беременности по сравнению с неосложненной беременностью.

Снижение активности лизосомальных ферментов в тканях хориона и плацентарного ложа, свидетельствующее о нарушении молекулярных механизмов регуляции энзимного гомеостаза, в частности, программируемой клеточной гибели, может быть одним из основных звеньев нарушения инвазии цитотрофобласта в ранние сроки беременности.

Основной проблемой современного акушерства и перинатологии продолжает оставаться фетоплацентарная недостаточность (ФПН) — «синдром, возникающий при различных заболеваниях матери и плода [1], развивающийся на молекулярном, клеточном, тканевом и органном уровнях [12], реализующийся в компенсированной, субкомпенсированной и декомпенсированной формах (стадиях)» [11]. Несмотря на многочисленные исследования морфофункциональных особенностей плаценты [6, 12], молекулярной биологии и патохимии ее в норме и при недостаточности [11], разработку и внедрение различных методов патогенетической терапии ФПН, до настоящего времени практически нет методов и способов лечения декомпенсированных форм ФПН, обуславливающих многочисленные осложнения беременности (преждевременная отслойка плаценты, задержка развития плода, невынашивание и недонашивание и др.).

Как правило, это следствие запоздалости терапевтических мероприятий, предпринимаемых, в основном, в конце третьего триместра беременности, когда нарушенные адаптационно-гомеостатические реакции ФПС не могут быть коррегированы в силу завершенности структурных изменений в самой плаценте и в ложе ее [9], в частности, развившейся недостаточности кровоснабжения из-за дефицита поступления артериальной [3] и оттока венозной крови. Вместе с тем основные механизмы формирования и функционирования ФПС, маточного ложа плаценты в ранние сроки остаются не изученными, что препятствует созданию эффективной системы патогенетических методов прогнозирования, профилактики и лечения ранних маточно-плацентарных дисфункций.

Известно, что протеолитические ферменты и их ингибиторы играют важную роль в регуляции циклических процессов в органах репродуктивной системы, обеспечении детородной функции в целом [8]. Лизосомы имеют важное биологическое значение как структуры, связанные с нормальной деятельностью клетки. Нарушение механизмов, регулирующих функцию лизосом, ведет к развитию разнообразных патологических процессов. Активность лизосом определяется состоянием их мембран и ферментов, заключенных в этих органеллах [13].

При беременности изменяется активность лизосомальных ферментов, но эти сведения фрагментарны и касаются единичных энзимов. Роль последних представляется существенной, если не основной, в процессах имплантации [10]. Инвазия трофобласта происходит при участии огромного количества протеолитических, гликолитических и других ферментов, которые «растворяют» ткани слизистой оболочки матки, но до конца взаимодействие бластоцисты и ткани матки остается неясным. Продемонстрировано достоверное повышение активности лизосомальных ферментов в плазме крови в 3-м триместре беременности, в частности, достоверное повышение N-ацетил-в-D-глюкозаминидазы и в целом повышение активности лизосомальных ферментов при беременности расценивают как одно из проявлений интенсификации метаболизма [7]. В то же время отсутствуют систематизированные сведения об изменении лизосомальной активности в тканях ФПС в динамике нормальной и, особенно, осложненной беременности. Это тем более важно, что изменения активности лизосомальных энзимов играют важную роль в патогенезе ранних осложнений беременности: активация протеолиза является важным патогенетическим звеном в развитии воспалительных реакций, наряду с повышением активности протеиназ, прежде всего, в очаге воспаления [4]. Показана корреляция между наличием воспалительного процесса в беременной матке (хориоамнионит) и повышением активности лизосомальной кислой фосфатазы в ворсинах хориона [10]. Установлена роль активизации кислых гидролаз в развитии гипоксии у матери и плода при наличии у беременных пороков сердца [2]. Особый интерес этот факт представляет в связи с тем, что активность других ферментов (катепсин D, РНКаза, ДНКаза) значительно не менялась. Активацию кислой фосфатазы связывают, в частности, с поверхностной локализацией этого фермента в мембране лизосом.

Исследование лизосомальных энзимов при беременности находит свое применение в пренатальной диагностике болезней накопления, связанных с недостаточностью того или иного фермента у плода [5]. Однако биохимические аспекты запрограммированной клеточной гибели (ПКГ), в частности, участие лизосом и их роль в ранние сроки беременности остаются неизученными. Нарушение процессов апоптоза в эмбриогенезе — спонтанное или индуцированное внешними тератогенными воздействиями, приводящее к внутриутробной гибели плода, врожденным уродствам или различным его заболеваниям, также невозможно без познания физиологических и патологических инициальных адаптационно-гомеостатических реакций ФПС, изучения основных потенциальных регуляторов бластогенеза.

Цель работы: определить патогенетическое значение изменений активности лизосомальных энзимов в норме и при различных осложнениях в 1-м триместре и их роль в формировании морфофункциональных особенностей плацентарного ложа матки и хориона.

Материалы и методы исследования. Было комплексно обследовано 55 пациенток с гестационными сроками 6—12 недель беременности в возрасте 20—36 лет, которые были разделены на 3 группы: 20 здоровых беременных женщин, пожелавших прервать беременность методом хирургического аборта, 15 — с начавшимся выкидышем и 20 — с неразвивающейся беременностью.

1. Клинико-статистический метод исследования позволил оценить соматический и гинекологический статус обследованных женщин.

2. Допплерометрически определялся индекс пульсации (ИП) спиральных и радиальных артерий на аппарате «Medison MultySync 15 Pro».

3. Биохимически определяли активность лизосомальных ферментов: N-ацетил-в-D-глюкозаминидазы (Ace), в-D-глюкуронидазы (Glu) в тканях и плазме крови (Фролов В. А., 1996).

4. Морфологические исследования. После прицельного УЗИ ложа хориона при производстве артифициального аборта были взяты ткани хориона и его ложа путем соскоба; полученные ткани фиксировали в течение 7 дней в нейтральном формалине, после соответствующей обработки и заливки в парафин получали срезы, окрашенные гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон, которые подвергались гистологическому изучению. При описании соскобов учитывалось состояние децидуальных клеток, активность инвазии интерстициального и внутрисосудистого цитотрофобластов.

Результаты исследования и обсуждение. При доплерометрическом исследовании определяемые средние значения ИП распределились следующим образом (табл. 1).

Таблица 1

Индекс пульсации в радиальных и спиральных артериях, см/с

Группы	№	Радиальные артерии	Спиральные артерии
Контроль	20	0,95±0,12	0,85±0,084
Начавшийся выкидыш	15	1,0±0,15	0,90±0,025
Неразвивающаяся беременность	20	1,09±0,22	0,97±0,019

При анализе полученных результатов не выявлено достоверных различий в периферическом сосудистом сопротивлении в радиальных и спиральных артериях женщин исследуемых групп.

До выскабливания стенок полости матки определялась активность лизосомальных ферментов в плазме крови (табл. 2).

Таблица 2

Активность лизосомальных ферментов
в плазме крови обследованных женщин, х1000

Группы	№	Ace	Glu
Контроль	20	20±0,8	2,0±1,0
Начавшийся выкидыш	15	16±1,3*	1,0±0,9
Неразвивающаяся беременность	20	11±0,2*	2,2±1,1

Примечание: * — достоверность различий с группой контроля ($p < 0,05$).

Как видно из табл. 2, отмечается достоверное снижение N-ацетил-в-D-глюкуронидазы ($p < 0,05$) по сравнению с контролем при неразвивающейся беременности и начавшемся выкидыше. При уровне лизосомального фермента N-ацетил-в-D-глюкозаминидазы, составляющем 0,0142—0,0178, диагностируют начавшийся выкидыш, а при уровне 0,0092—0,0128 — замершую беременность. Активность фермента в-D-глюкуронидазы между группами достоверно не менялась.

В ходе морфологического изучения в группе контроля в 25% выявлен продуктивный эндометрит и в дальнейшем в контрольной группе исследования проводились в двух подгруппах с учетом воспалительного процесса. Общая активность лизосомальных ферментов в ткани хориона и плацентарного ложа представлена в табл. 3.

Таблица 3

**Активность лизосомальных ферментов в хорионе и плацентарном ложе (ПЛ)
обследованных женщин, $\times 1000$**

Группы	n	Ace		Glu		KPLIM
		Хорион	ПЛ	Хорион	ПЛ	Хорион + ПЛ
Конт. всего	20	14,7 $\pm$ 1,4	6,30 $\pm$ 0,20	2,90 $\pm$ 1,10	2,20 $\pm$ 0,18	17,5%
роль эндометрит	5	16,2 $\pm$ 1,5	6,80 $\pm$ 0,20	3,20 $\pm$ 1,20*	2,40 $\pm$ 0,16*	15%
без эндометрита	15	13,2 $\pm$ 1,2	6,2 $\pm$ 0,18*	2,80 $\pm$ 1,02	2,10 $\pm$ 0,17*	20%
Начавшийся выкидыш	15	6,5 $\pm$ 0,8*	3,70 $\pm$ 0,10*	2,01 $\pm$ 0,30	1,09 $\pm$ 0,13*	50%*
Неразвивающ. беременность	20	2,0 $\pm$ 0,7*	2,08 $\pm$ 0,11*	0,09 $\pm$ 0,05*	0,07 $\pm$ 0,06*	60%*

Примечание: * — достоверность различий с группой контроля ($p < 0,05$).

Активность ферментов в тканях хориона и плацентарного ложа при наличии продуктивного эндометрита была выше, чем в основной группе без воспаления. При начавшемся выкидыше и неразвивающейся беременности активность обоих ферментов достоверно снижалась по сравнению с контролем. Коэффициент проницаемости лизосомных мембран (КПЛМ) в тканях хориона и плацентарного ложа в группе контроля составил 20%, при начавшемся выкидыше — 50%, при замершей беременности — 60%. В группе с наличием эндометрита КПЛМ имел тенденцию к снижению, в отличие от основной группы без воспаления.

При морфологическом исследовании в контрольной группе строение плацентарного ложа характеризовалось равномерной инвазией интерстициального и внутрисосудистого цитотрофобластов (рис. 1). Однако у 25% здоровых женщин гистологически диагностировался децидуит (рис. 2), несмотря на отсутствие в анамнезе и на момент прерывания беременности указаний на урогенитальную инфекцию.

В плацентарном ложе матки при начавшемся выкидыше выявилось снижение активности интерстициального цитотрофобласта, практически отсутствовала первая волна инвазии, часто выявлялись тромбозы сосудов эндометрия (рис. 3).

Плацентарное ложе матки при неразвивающейся беременности характеризовалось как адекватная децидуальная реакция, выраженный париетальный и ба-

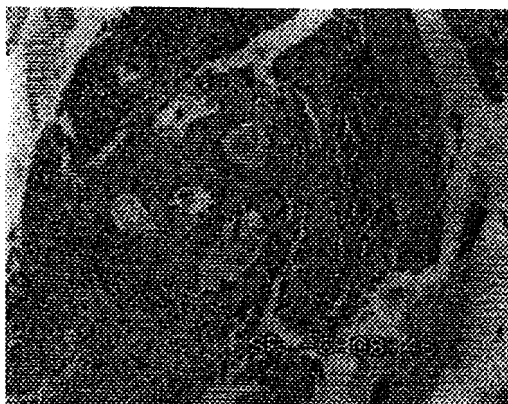


Рис. 1. Морфологические особенности плацентарного ложа при физиологически протекающей беременности. Окраска гематоксилин-эозином ($\times 250$)



Рис. 2. Морфологические особенности плацентарного ложа при эндометрите в ранние сроки беременности. Окраска гематоксилин-эозином ($\times 250$)



Рис. 3. Морфологические особенности плацентарного ложа при начавшемся выкидыше. Окраска гематоксилин-эозином (× 250)

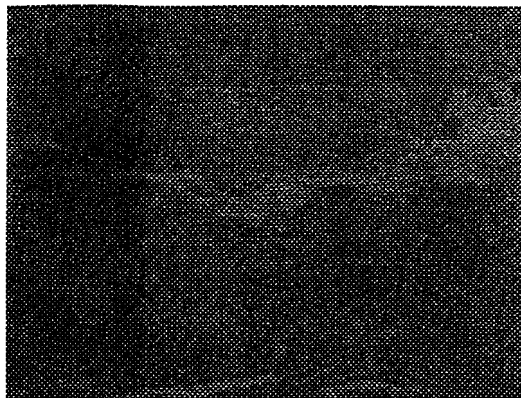


Рис. 4. Морфологические особенности плацентарного ложа матки при неразвивающейся беременности. Окраска гематоксилин-эозином (× 250)

зальный децидуит с множественными микроабсцессами под слоем фибриноида Рора, маточно-плацентарный артериит, частичный некроз децидуальных клеток в зоне воспалительной инфильтрации, атрофия маточных желез (рис. 4).

Установлено достоверное снижение активности N-ацетил-в-D-глюкозаминидазы в плазме крови, ткани хориона и плацентарном ложе при начавшемся выкидыше, неразвивающейся беременности по сравнению с неосложненной беременностью в 1-м триместре. Причины, вызвавшие развитие неразвивающейся беременности, обусловили нарушение процессов апоптоза в эмбриогенезе, возможно, это привело к высвобождению лизосомальных ферментов с последующей гибелью клетки, что подтверждается морфологическими изменениями на ранних этапах развития неразвивающейся беременности. Выявленное снижение активности лизосомальных энзимов, очевидно, является следствием истощения лизосом в результате клеточного повреждения.

Одной из причин прерывания беременности является поверхностная имплантация, которая, по всей видимости, сформировалась вследствие недостаточной ферментативной активности трофобласта, литическая способность которого определяет глубину и полноту инвазии. Вероятно, первичная недостаточность количества лизосом явилась причиной поверхностной имплантации с последующим прерыванием беременности в финале.

Таким образом, снижение активности лизосомальных ферментов в тканях хориона и плацентарного ложа играет важную роль в патогенезе осложнений в 1-м триместре беременности, обуславливая нарушения процессов инвазии обоих цитотрофобластов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гармашева Н.Л., Константинова Н.Н. Введение в перинатальную медицину. — М.: Медицина, 1978. — 291 с.
2. Генералов С.И., Мареева Т.Е. Перекисное окисление липидов и активность энзимов лизосом у беременных с пороком сердца // Акуш. и гинек., 1990, № 9, с. 22—24.
3. Демидов Б.С. Клиническое значение доплерометрии в диагностике и прогнозировании плацентарной недостаточности во втором и третьем триместрах беременности / Автореф. дисс. к. м. н. — М., 2000. — 18 с.
4. Ерохина А.А. Лизосомальные ферменты в патогенезе послеродового эндометрита / Автореф. дисс. к. м. н. — Рязань, 1996. — 20 с.

5. *Краснопольская К.Д. с соавт.* Программа профилактики наследственных лизосомных болезней в СССР // Вестник Российской Академии мед. наук, 1992, № 4, с. 20—24.
6. *Милованов А.П.* Патология системы мать—плацента—плод. — М.: Медицина, 1999, с. 40—93.
7. *Миренбург Т.В., Краснопольская К.Д., Гаргаун С.С., Чеботарев А.Н.* Исследование экспрессии лизосомальных ферментов при беременности // Вопросы медицинской химии, 1995, № 1, т. 41, с. 39—41.
8. *Нагорная В.Ф.* Овуляция и протеолитические ферменты // Акуш. и гинек., 1990, № 4, с. 13—17.
9. *Оразмурадов А.А.* Плацентарное ложе матки при анемии / Автореф. дисс. к. м. н. — М., 1999. — 23 с.
10. *Потанов В.П.* Активность лизосомальной кислой фосфатазы в гомогенате ворсин хориона // Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины. — Новосибирск, 1989, с. 113—114.
11. *Радзинский В.Е., Смалько П.Я.* Биохимия плацентарной недостаточности. — М., 2001. — 276 с.
12. *Федорова М.В., Калашикова Е.П.* Плацента и ее роль при беременности. — М.: Медицина, 1986. — 128 с.
13. *Чешем К.* Роль лизосом в патогенезе аденомиоза и миомы матки / Автореф. дисс. к. м. н. — М., 1999. — 21 с.

LYSOSOMAL REGULATION OF ENZYMES HOMEOSTASIS AT EARLY STADES OF NORMAL AND COMPLICATED PREGNANCY

V.E. RADZINSKY, A.A. ORAZMURADOV, A.E. KIM, V.A. ZAYAKIN, Ch.E. EGANOVA

Department of Obstetrics and Gynaecology with course of Perinatology
Russian University of Peoples' Friendship
Miklukho-Maklaya str., 8, Medical Faculty, 117198 Moscow, Russia

V.A. FROLOV

Department of Pathophysiology
Russian University of Peoples' Friendship
Miklukho-Maklaya str., 8, Medical Faculty, 117198 Moscow, Russia

V.A. SOBOLEV, N.L. IVANOVA

Department of clinical and experimental immunology
Clinical Hospital № 29
Gospitalnaya sq., 2, 111020 Moscow, Russia

55 pregnant women in gestational age from 6 to 12 weeks divided into 3 groups were investigated: 20 healthy women, wishing were taken as conforms to interrupt pregnancy by a method of a surgical abortion, 15 — with incipient abortion and 20 — with missed abortions.

The purpose of research: to determine normal activity of lysosomal enzymes, at various complications during I trimester of pregnancy and their role in morphofunctional development of placental bed and chorion.

Here was statistically significant difference of some enrymes activities in conglicated fregnancies vs control.

The decrease of lysosomal enzymes activity in chorionic tissue and placental bed, indicating on deviations of molecular mechanisms of enzyme homeostasis regulation, in particular, programmed cellular destruction, can be one of the basic parts of cytotrophoblast invasion distructances ae early stages.