

М.И. ДЕДУЛЬ, Л.Е. РАДЕЦКАЯ, Л.Н. КИРПИЧЕНОК

СИСТЕМА ПРОТЕОЛИЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ЭНДОМЕТРИОЗОМУО «Витебский государственный медицинский университет»,
Республика Беларусь

У 35 здоровых женщин, 20 больных с множественной локализацией наружного эндометриоза, 10 - с малыми формами наружного эндометриоза и 13 больных с трубно-перитонеальным фактором бесплодия (ТПФБ) были исследованы общая протеолитическая активность (ОПА) и активность α 1-антипротеиназного ингибитора (АПИ), α 2-макроглобулина (МГ), ингибитора цистеиновых протеиназ (ИЦП) в сыворотке крови и перитонеальной жидкости. Активность системы протеиназ при эндометриозе была нарушена, главным образом за счет ингибиторного потенциала. Во всех исследуемых группах АПИ был выше, чем у здоровых, МГ и ИЦП, наоборот – снижены. Выраженность этих нарушений не зависела от количества и размера эндометриозных очагов. При ТПФБ активность протеолитической системы отличалась от здоровых за счет АПИ и МГ. Активность АПИ при ТПФБ была стимулирована, МГ – угнетена. Впервые выявлено наличие ферментативной и ингибиторной активности в перитонеальной жидкости при гинекологической патологии. Изменения АПИ в перитонеальной жидкости были противоположны его изменениям в сыворотке крови.

The general proteolytic activity (GPA) and activity of α 1-antiproteinases inhibitor (API), α 2-macroglobulin (MG), cysteinic proteinases inhibitor (ICP) in the blood serum and peritoneal fluid have been analyzed in 35 healthy women, in 20 patients with plural localization of the external endometriosis, in 10 – with small forms of the external endometriosis and in 13 patients with pelvic adhesions associated with infertility (PAAI). . Proteolytic system activity in case of endometriosis has been disturbed, mainly because of inhibitor potential. In all research groups API was higher, than in healthy, the MG and ICP, on the contrary – were reduced. Expressiveness of these disturbances didn't depend on the amount and size of endometriosis foci. At PAAI the activity of proteolytic system differed from healthy owing to API and MG. API activity at PAAI was stimulated, MG was depressed. For the first time the presence of proteolytic and inhibitor activity in the peritoneal fluid was revealed in case of gynecological pathology. API changes in peritoneal fluid were opposite to the changes in the blood serum.

Эндометриоз становится все более частой “находкой” во время оперативных вмешательств в практике не только гинекологов, но и хирургов, урологов и врачей дру-

гих специальностей. Основной метод диагностики и лечения наружного генитального эндометриоза хирургический. Рост частоты эндометриоза в структуре гинеко-

логической заболеваемости у женщин репродуктивного возраста, дорогостоящее и недостаточно эффективное лечение ведет к необходимости поиска новых путей решения этой проблемы [6].

Возросший в последнее время научный интерес к протеиназам определяется их ключевой ролью во многих процессах жизнедеятельности организма и вовлеченностью в различные патологические процессы. Судьба десятков тысяч различных белков — образование их активных форм, модификация и разрушение — находится под контролем протеолитических ферментов. Протеиназы и их ингибиторы участвуют в процессах воспаления (тромбин, плазмин), формировании иммунного ответа (катепсины, эластаза). Важная роль принадлежит этим ферментам в запуске и осуществлении многих каскадных реакций, таких, как свертывание крови (тромбин, протеин С, плазмин), фибринолиз, система комплемента, кининогенез, ангиотензиногенез, апоптоз (каспазы, катепсины). Тем самым протеиназы определяют начало, а иногда и прекращение многих физиологических процессов [2]. Локальное усиление протеолиза белков межклеточного матрикса (коллагена, фибронектина, ламинина, протеогликанов) отмечается при инвазивном росте и метастазировании опухолей [4].

Установлено участие протеолиза и в репродуктивных функциях организма: процессах овуляции (плазмин), децидуализации (катепсины), оплодотворения (акрозин), имплантации (катепсины, плазмин), плацентации (катепсины, α_2 -макроглобулин) [2]. С учетом изложенного становится понятным повышенный интерес в последние десятилетия к изучению роли протеолиза в патогенезе патологии репродуктивной системы, в частности генитального эндометриоза. В имплантационной теории развития эндометриоза первостепенное значение отводится факторам адгезии

и инвазии, среди которых наибольшее значение имеют ферменты протеолитической системы [5]. Однако данные о роли последних в развитии эндометриоза противоречивы. В сыворотке крови при наружном эндометриозе отмечено повышение тромбинового и протромбинового времени, концентрации α_2 -макроглобулина и снижение плазмينا [3]. Активация α_1 -антипротеиназного ингибитора установлена при аденомиозе в сыворотке крови и перитонеальной жидкости [7]. По данным других авторов, напротив, в сыворотке крови и эндометрии больных внутренним эндометриозом имела место резкая активация протеолитических процессов и низкий ингибиторный потенциал, что послужило основанием для использования антагозана и овомина в качестве терапевтического средства для лечения этих больных [1]. N.Suzumori (1999) исследовал секреторный лейкоцитарный ингибитор протеиназ (SLPI) в перитонеальной жидкости у женщин больных эндометриозом и считает, что последний может играть роль в патогенезе развития эндометриоза [9]. В последнее время появились исследования относительно роли металлопротеиназ матрикса и их ингибиторов в патогенезе эндометриоза матки [6,10]. Однако немногочисленность и противоречивость данных о состоянии системы протеолиза, неясность многих вопросов ее функционирования и регуляции диктует необходимость дальнейшего изучения проблемы, в частности, с целью углубления знаний о механизмах инвазивного роста и распространения эндометриоидных гетеротопий. Отсутствуют данные о протеолитической активности и активности основных ингибиторов протеиназ в сыворотке крови и перитонеальной жидкости у больных с наружным эндометриозом. Представляет интерес изучение состояния протеолитической системы при различных стадиях эндометриоидной болезни — малых

формах и множественной локализации распространенного эндометриоза, а также при различных формах бесплодия.

Цель исследования: комплексное изучение активности протеиназной и антипротеиназной системы в сыворотке крови и перитонеальной жидкости у больных с различной степенью распространения наружного эндометриоза и бесплодием, что позволит получить новые данные о механизмах развития данного заболевания.

Материалы и методы

В работе представлены результаты обследования 20 больных с множественной локализацией наружного эндометриоза, 10 - с малыми формами наружного эндометриоза и 13 – спаечным процессом в малом тазу (трубно-перитонеальным фактором бесплодия). Контрольную группу составили 35 здоровых женщин. У 24 из них исследовали только сыворотку крови, у 11 – сыворотку крови и перитонеальную жидкость. Забор перитонеальной жидкости был произведен у здоровых и больных женщин

во время лапароскопического оперативного вмешательства. У 6 здоровых женщин была выполнена добровольная хирургическая стерилизация, у 1 - удаление кисты желтого тела яичника, у 4 - удаление параовариальной кисты яичника.

Возраст здоровых женщин колебался от 28 до 41 лет ($35,7 \pm 2,9$ лет), больных эндометриозом - от 24 до 42 лет (с множественной локализацией эндометриоза - $32,5 \pm 4,4$, с малыми формами - $30,2 \pm 3,2$ года). Средний возраст в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия составил $27,5 \pm 4,5$ лет. Длительность менструального цикла в группе здоровых женщин была $28,6 \pm 1,9$ дней, у больных эндометриозом – $28,0 \pm 1,8$ дней, у больных с трубно-перитонеальным бесплодием - $29,7 \pm 2,4$ дней. Длительность менструального кровотечения не превышала 6 дней, в среднем составила $4,2 \pm 1,0$ дня у здоровых, $5,2 \pm 0,9$ дня у больных эндометриозом и $4,9 \pm 1,6$ дня у больных с трубно-перитонеальным бесплодием.

Структура сопутствующей и перенесенной гинекологической патологии представлена в таблице 1.

Таблица 1

Сопутствующая и перенесенная гинекологическая патология у обследованных больных

Сопутствующее заболевание	Число больных у которых определяли данный симптом		
	малые формы эндометриоза, n=10	множественная локализация эндометриоза, n=20	трубно-перитонеальный фактор бесплодия, n=13
Миома матки	4	8	1
Эктопия шейки матки	3	9	1
Бесплодие первичное	7	7	7
Бесплодие вторичное	3	4	6
Спаечный процесс в малом тазу	4	13	10
Урогенитальный уреамикоплазмоз и хламидиоз	9	4	4

Как видно из представленных данных, в анамнезе у больных с трубно-перитонеальным фактором бесплодия наиболее часто встречались хронический аднексит (8 случаев из 13) и урогенитальные инфекции (4 случая из 13), в том числе микст-инфекция. У 10 из 13 этих больных при лапароскопии в малом тазу был выявлен спаечный процесс различной степени выраженности. У больных эндометриозом обеих групп отсутствовали существенные различия в данных анамнеза, структуре сопутствующей гинекологической патологии, характере менструальной функции. Первичным и вторичным бесплодием страдали все больные с малыми формами эндометриоза. В данной группе наиболее часто встречались урогенитальные инфекции (хламидиоз, уреаплазмоз).

Наиболее частыми проявлениями наружного эндометриоза были: гиперменорея – у 9 пациенток, “мажущие” выделения до менструаций – у 2, диспареуния – у 5, альгодисменорея – у 18 женщин. Постоянные боли в течение всего менструального цикла отмечала 1 пациентка. У 10 из 11 больных диагноз эндометриоза был впервые установлен во время данного оперативного вмешательства (по поводу бесплодия). Гормональное лечение по поводу эндометриоза (монофазные КОК, прогестины) ранее получали 2 пациентки. Последние 3 месяца перед оперативным вмешательством больные гормональных препаратов не принимали.

В группе больных с трубно-перитонеальным фактором бесплодия 3 пациентки предъявляли жалобы на дисменорею, других жалоб не было.

Общую протеолитическую активность в сыворотке крови и перитонеальной жидкости определяли методом Erlanger B.F. et al. (1961 год) в модификации Кирпиченок Л.Н. [5]. Активность α 1-антипротеиназного ингибитора (АПИ), α 2-макроглобулина

(МГ), ингибитора цистеиновых протеиназ (ИЦП) определяли методом Беловой В.Б. и Хватова Т.А [8]. Поскольку конечный эффект действия протеолитической системы зависит от соотношения протеиназ и их ингибиторов, для интегральной оценки был введен показатель, который рассчитывали как соотношение общей протеолитической активности к сумме активности основных ингибиторов протеиназ и выражали в условных единицах – индекс протеолиза (ИП). Исследования проводились на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Витебского государственного медицинского университета.

Результаты обработаны статистически с помощью пакета компьютерных программ Statistica 6,0 и представлены в виде $M \pm \sigma$.

Результаты исследования: нами исследована ферментативная и ингибиторная активность сыворотки крови у больных с трубно-перитонеальным фактором бесплодия в сравнении с малыми формами и множественной локализацией эндометриоза. Сравнительный анализ был проведен в период наибольших клинических проявлений эндометриоза – лютеиновую фазу менструального цикла. Полученные данные представлены в таблице 2.

Как видно из представленных данных, во всех исследуемых группах протеолитическая активность и активность основных ингибиторов протеиназ были изменены. При этом характер изменений активности ингибиторов протеиназ во всех сравниваемых группах был идентичным. Обращает на себя внимание, что статистически значимых различий между группами в нашем исследовании не было. АПИ у больных с трубно-перитонеальным бесплодием ($3,26 \pm 0,99$ ммоль/л*с) был выше, чем в контрольной группе на 48,9 %, у больных с множественной локализацией эндометриоза – на 33,3 % ($2,92 \pm 0,72$ ммоль/л*с). МГ, в отличие от АПИ, во всех группах был

Таблица 2

**Активность протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови
больных с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и эндометриозом**

Наименование показателя	Исследуемая группа			
	здоровые, n=13	трубно- перитонеальный фактор бесплодия, n=7	малые формы эндометриоза, n=5	эндометриоз множественный, n=9
ОПА, ммоль/л*с	3,98±0,83	4,04±4,33	3,69±0,85	5,58±4,08
АПИ, ммоль/л*с	2,19±0,79	3,26±0,99 P1<0,05	2,83±1,28	2,92±0,72 P1<0,05
МГ, ммоль/л*с	4,02±0,95	2,44±1,07 P1<0,05	3,22±0,71	3,11±0,76 P1<0,05
ИЦП, ммоль/л*с	0,51±0,12	0,29±0,15 P1<0,05	0,32±0,08 P1<0,05	0,41±0,13
ИП, усл.ед.	0,69±0,32	0,74±0,89	0,77±0,09	0,86±0,56

Примечание: P1-достоверность различий в сравнении с уровнем в контрольной группе

меньше, чем в контрольной. Так, у больных с трубно-перитонеальным бесплодием МГ был ниже ($2,44 \pm 1,07$ ммоль/л*с), чем у здоровых ($4,02 \pm 0,95$ ммоль/л*с) на 39,3 %, у больных с множественной локализацией эндометриоза - на 22,6 % ($3,11 \pm 0,76$ ммоль/л*с). ИЦП в группе больных с малыми формами эндометриоза ($0,29 \pm 0,15$ ммоль/л*с) в сравнении со здоровыми ($0,51 \pm 0,12$ ммоль/л*с) был снижен на 37,3 %, у больных с трубно-перитонеальным бесплодием - на 43,1 % ($0,32 \pm 0,08$ ммоль/л*с).

Данные о ферментативной активности и активности ингибиторов протеиназ в перитонеальной жидкости представлены в таблице 3.

Как следует из представленных данных, ОПА у больных с малыми формами эндометриоза составила $0,85 \pm 1,90$ ммоль/л*с, у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием - $1,56 \pm 1,88$ ммоль/л*с, с множе-

ственным эндометриозом - $3,65 \pm 3,52$ ммоль/л*с. АПИ во всех группах был ниже, чем у здоровых, однако достоверными изменения были только у женщин с малыми формами эндометриоза. В этой группе данный показатель ($0,88 \pm 0,43$ ммоль/л*с) был на 49,7 % ниже, чем у здоровых ($1,75 \pm 0,43$ ммоль/л*с). МГ в исследуемых группах был выше, чем у здоровых. Хотя нами не отмечено достоверных изменений его активности в сравнении со здоровыми. В отличие от сыворотки крови, в перитонеальной жидкости АПИ имел тенденцию к снижению, а МГ наоборот, к повышению. Нами не отмечено статистически значимых различий между группами по исследуемым показателям.

Результаты и обсуждение

Активность системы протеиназ при эндометриозе была нарушена главным об-

Таблица 3

**Активность протеиназ и их ингибиторов в перитонеальной жидкости
больных с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и эндометриозом**

Наименование показателя	Исследуемая группа			
	здоровые, n=4	трубно- перитонеальный фактор бесплодия, n=6	малые формы эндометриоза, n=5	эндометриоз множественный, n=7
ОПА, ммоль/л*с	0,64±0,75	1,56±1,88	0,85±1,90	3,65±3,52
АПИ, ммоль/л*с	1,75±0,43	1,40±1,38	0,88±0,43 P1<0,05	1,25±0,81
МГ, ммоль/л*с	1,68±0,44	1,92±0,76	1,91±0,54	2,16±0,57
ИЦП, ммоль/л*с	0,27±0,13	0,24±0,12	0,26±0,11	0,25±0,08
ИП, усл.ед.	0,17±0,19	0,42±0,35	0,43±0,64	1,14±0,95

Примечание: P1-достоверность различий в сравнении с уровнем контрольной группы

разом за счет ингибиторного потенциала. Выраженность этих нарушений не зависела от количества и размера эндометриозных очагов. То есть, система протеиназа-ингибитор при эндометриозе вовлекается в патологический процесс уже на самых ранних стадиях и требует коррекции начиная с момента постановки диагноза. Коррекция должна быть направлена в первую очередь на нормализацию активности ингибиторного компонента системы.

При ТПФБ активность протеолитической системы отличалась от здоровых за счет АПИ и МГ. Активность АПИ при ТПФБ была стимулирована, МГ – угнетена. Металлопротеиназы (эластаза, коллагеназа) матрикса расщепляют компоненты внеклеточного матрикса, являясь универсальными рестрикторами соединительнотканых образований, в том числе и спаек. АПИ угнетает активность этих протеиназ, тем са-

мым являясь ограничителем процесса деструктуризации спаечных структур. Дисбаланс и дефицит потребления АПИ на организменном и локальном уровне, имеющийся у больных эндометриозом, создает благоприятные условия для инвазивного роста эндометриозных гетеротопий, с одной стороны, и повышенного образования спаек в брюшной полости и малом тазу, с другой. В случае бесплодия, обусловленного трубно-перитонельным фактором роль пускового механизма может играть инфекционный агент. Отсутствие значимых различий в активности компонентов протеолитической системы в группе больных эндометриозом и трубно-перитонеальным бесплодием, по-видимому, объясняется тем, что оба процесса характеризуются повышенным спайкообразованием.

Таким образом, исследуемые в работе протеиназы и их ингибиторы важны и как

участники патогенеза наружного генитального эндометриоза, и как диагностические и прогностические маркеры при этом заболевании. Полученные данные закладывают основу для разработки комплексных методов коррекции как локальных, так и системных нарушений в системе протеиназа-ингибитор.

Выводы

Впервые проведенное комплексное исследование протеиназной и антипротеиназной активности сыворотки крови у больных с различной степенью распространения наружного эндометриоза и у больных с трубно-перитонеальным фактором бесплодия позволило сделать следующие выводы:

1. Активность системы протеиназ при эндометриозе была нарушена, главным образом за счет ингибиторного потенциала. Во всех исследуемых группах АПИ был выше, чем у здоровых, МГ и ИЦП, наоборот – снижены. Выраженность этих нарушений не зависела от количества и размера эндометриоидных очагов.

2. При ТПФБ активность протеолитической системы отличалась от здоровых за счет АПИ и МГ. Активность АПИ при ТПФБ была стимулирована, МГ – угнетена.

3. Впервые выявлено наличие ферментативной и ингибиторной активности в перитонеальной жидкости при гинекологической патологии. Изменения АПИ в перитонеальной жидкости были противоположны его изменениям в сыворотке крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барановская, Е.И. Роль протеолиза в циклической трансформации эндометрия и

патогенезе внутреннего эндометриоза матки, методы коррекции: автореф. дис. канд.-мед.наук:14.00.01 / Е.И. Барановская; Минский мед.институт. – Минск.,1995. – 20 с.

2. Веремеенко, К.Н. Протеолиз в норме и при патологии / К.Н. Веремеенко, О.П. Голобородько, А.И. Кизим. – Киев: Здоров'я, 1988. – 199 с.

3. Герасимов, А.М. Особенности протеазной и антипротеазной активности крови у женщин с наружным эндометриозом / А.М. Герасимов // Клиническая лаб. диагностика. – 2005. – № 3. – С. 14–16.

4. Кирпиченок, Л.Н. Протеиназы и их ингибиторы в гнойной хирургии и онкологии / Л.Н. Кирпиченок, А.Н. Косинец. – Витебск: ВГМУ, 2003. – 409 с.

5. Радецкая, Л.Е. Эндометриоидная болезнь (патогенез, диагностика, лечение) / Л.Е. Радецкая, Л.Я. Супрун. – Витебск: ВГМУ, 2000. – 112 с.

6. Роль матриксных металлопротеиназ в развитии аденомиоза / И.С. Сидорова [и др.] // Проблемы репродукции. – 2006. – С. 86-87.

7. Система протеолиза в генезе аденомиоза / А.В. Адамян [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 5. – С. 22–25.

8. Хватов, В.Б. Ускоренный метод определения основных ингибиторов протеиназ в плазме крови человека: метод. рекомендации / В.Б. Хватов, Т.А. Белова; МЗ РСФСР. – Москва, 1981. – 16 с.

9. Expression of secretory leukocyte protease inhibitor in women with endometriosis / N. Suzumori [et al.] // Fertil. Steril. – 1999. – P. 857-867.

10. Szamatowicz, J. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1: a possible role in the pathogenesis of endometriosis / J. Szamatowicz, P. Laudanski, I. Tomaszewcka // Hum. Reprod. – 2002. – P. 284-288.

Поступила 20.09.2006 г.