

11. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры тканей в гематологии. Томск, 1992.
12. Новиков Д.К., Новикова В.И. Клеточные методы иммунодиагностики. Минск, 1979.
13. Демченко Т.А., Джагинян А.И. // Иммунология. 1981. № 4. С. 83–85.

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт

15 марта 2006 г.

УДК 61:618:577

СОСТОЯНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В КУЛЬТУРЕ ВОРСИН ХОРИОНА БОЛЬНЫХ ПОЗДНИМ ГЕСТОЗОМ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

© 2006 г. *А.Ю. Криворучко, А.Н. Квочко*

Development of pre-eclampsia not associated with change of level of glucose in chorionic villi. But chorionic villi culture stay in hypoxic condition demonstrate decrease of glucose level in tissue, more in severe form of disease. Complication with hypotrophia demonstrated fast stop of glycolysis.

При нарушении маточно-плацентарного кровотока, являющегося основным компонентом развития позднего гестоза (ПГ), возникает дефицит кислорода и энергетических субстратов. В этом случае реакции компенсации направлены на усиление транспорта энергоносителей, в первую очередь глюкозы, через плацентарный барьер [1–3]. Потребление глюкозы синцитиотрофобластом в условиях гипоксии значительно возрастает – для обеспечения энергетических потребностей плаценты активизируются процессы анаэробного гликолиза [4]. Для определения интенсивности этих процессов в динамике воздействия гипоксии мы изучили содержание глюкозы в ходе нагрузочных проб в культуре хориальных ворсин.

Материалы и методы

На основании клинического обследования для взятия образцов плацентарной ткани нами были выбраны 20 здоровых родильниц, 20 родильниц с легкой и 20 с тяжелой формой позднего гестоза. Объектом исследования служила плацента, полученная сразу после родов и во время операций кесарева сечения. Материал собирали в стерильных условиях, помещали в герметичную посуду, заполненную стерильным раствором Хенкса, и в течение 10 мин доставляли в лабораторию. В стерильном боксе немедленно производили дальнейшую подготовку материала и проведение нагрузочных проб гипоксией по модифицированному методу, описанному [5].

С целью моделирования *in vitro* патологических условий существования плаценты, приводящих к развитию ПГ, хориальную ткань культивировали в условиях гипоксии. Они создавались путем инкубации в течение 24 ч в термостате, разогретом до 37 °С, при непрерывном встряхивании, навески измельченной ткани массой 500 мг в герметично закрытой пла-

стиковой пробирке без доступа кислорода, заполненной 3,5 мл стерильной культуральной среды 199 с добавлением 350 мкл инаktivированной сыворотки крови IV группы здоровых небеременных женщин и гентамицина в концентрации 60 мкг/мл. Условия сочетанной гипоксии и гипотрофии создавали аналогично условиям изолированной гипоксии, только среду 199 заменяли на стерильный раствор Хенкса. Определение количества глюкозы в хориальной ткани проводили набором реактивов производства НПФ «АБРИС+», Россия, г. Санкт-Петербург, унифицированным глюкозооксидазным методом. Постановку биохимических тестов проводили на пластинчатых 96-луночных стрипированных микропланшетах. Результаты считывали планшетным фотометром iEMS Reader MF производства фирмы Labsystems, Финляндия, г. Хельсинки. Построение калибровочных графиков и вычисления производили на IBM-совместимом компьютере в программе Microsoft Excel'97 для Windows'95.

Результаты исследования

Концентрация глюкозы в ворсинах хориона на момент родов достоверно не различалась во всех трех группах (таблица). После воздействия гипоксии на культуру ткани конечный уровень глюкозы был максимальным у здоровых женщин. У больных ПГ он был достоверно ниже по сравнению со здоровыми и не зависел от степени тяжести ПГ.

Содержание глюкозы в терминальных ворсинах хориона, ммоль/кг ткани

Образец хориальной ткани	Здоровые, М±m (n = 20)	Больные ПГ, М ± m (n = 20)	
		Легкая форма	Тяжелая форма
Непосредственно после родов	2,75 ± 0,16	3,11 ± 0,19	2,82 ± 0,14
После воздействия гипоксии	1,63 ± 0,10	1,32 ± 0,09*	1,24 ± 0,08**
После воздействия сочетания гипоксии и гипотрофии	1,97 ± 0,11	1,85 ± 0,08	2,27 ± 0,10

Примечание. Статистическая значимость различий с данными группы здоровых: * – $p < 0,05$ и ** – $p < 0,001$.

Содержание глюкозы после сочетанного воздействия гипоксии и гипотрофии достоверно не различалось во всех трех группах. Воздействие гипоксии привело к значительному уменьшению содержания глюкозы в ткани, разница была наименьшей у здоровых женщин и наибольшей – у больных ПГ вне зависимости от степени тяжести.

Сочетанное влияние гипоксии и гипотрофии также сопровождалось снижением концентрации глюкозы, но в меньшем объеме по сравнению с изолированным воздействием гипоксии. Величина снижения была максимальной у больных легкой формой ПГ и минимальной – у больных тяжелыми формами.

Обсуждение

Существование клеточных структур в условиях гипоксии зависит от поступления к клеткам глюкозы, а при ее недостатке – рано начинают исполь-

зоваться клеточные запасы гликогена. Так как процесс происходит в анаэробных условиях, быстро идет накопление лактата, развивается клеточный ацидоз и интенсивность гликолиза быстро снижается почти до нуля.

Именно такие результаты были получены при исследовании обмена глюкозы. Пребывание ткани в условиях гипоксии сопровождалось распадом гликогена и усиленным потреблением глюкозы, количество которой в ткани значительно снизилось. Если количество глюкозы в ткани на момент родов достоверно не различалось, то после воздействия гипоксии содержание ее в ворсинах хориона больных ПГ оказалось почти в 1,3 раза меньше, чем у здоровых. Это свидетельствует о том, что на момент остановки гликолиза в ткани хориона больных ПГ имелся значительный дефицит энергоносителей, в первую очередь гликогена. Этот дефицит был сильнее выражен у больных тяжелыми формами ПГ, количество глюкозы в ворсинах хориона у которых было достоверно меньше, чем у больных легкой формой.

Воздействие сочетанной гипоксии и гипотрофии, в отличие от изолированной гипоксии, не позволяло ткани получать глюкозу извне. В результате рано начался распад клеточного гликогена (дополнительно уменьшающий количество АТФ); в условиях недостатка энергии был нарушен обмен клетки с внешней средой для компенсации метаболического ацидоза, и в результате накопления лактата процесс гликолиза остановился раньше, чем при воздействии просто гипоксии. Об этом свидетельствует более высокий уровень глюкозы в ткани по сравнению с инкубированной в условиях гипоксии. Интенсивность процессов гликолиза и время его остановки при воздействии на ткань сочетанной гипоксии и гипотрофии не различались между группами обследованных. Это связано с тем, что процесс гликолиза является очень чувствительным к поступлению глюкозы в клетку и состоянию ее буферных систем, которым требуется постоянный обмен компонентами с внешней средой. Соответственно гликолиз быстро прекращается как в ткани больных, так и в ткани здоровых.

Проведенное исследование углеводного обмена показывает, что запас энергоносителей (глюкоза и гликоген) в клетках больных ПГ снижен по сравнению со здоровыми. Наименьшие резервы имеются у больных тяжелыми формами ПГ.

Литература

1. Анастасьева В.Г. Морфофункциональные нарушения фето-плацентарного комплекса при плацентарной недостаточности (современные методы диагностики и лечения) / Под ред. Н.В. Анастасьевой. Новосибирск, 1997.
2. Burton G.J. et al. // Placenta. 1996. Vol. 17. № 1. P. 49–55.
3. Kay H.H. et al. // J. Soc. Gynecol. Invest. 1997. Vol. 4. № 5. P. 241–246.
4. Kingdom J.C., Kaufmann P. // Placenta. 1997. Vol. 18. № 8. P. 613–621.
5. Benyo D.F., Miles T.M., Conrad K.P. // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1997. Vol. 82. № 5. P. 1582–1588.