

На правах рукописи



Дмитриева Маргарита Леонидовна

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ АУТОИММУННЫХ
ПРОЦЕССОВ В ЯИЧНИКАХ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ МАЛОГО ТАЗА**

**03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология
14.01.01 – акушерство и гинекология**

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Томск – 2012

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Логвинов Сергей Валентинович
Тихоновская Ольга Анатольевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры морфологии и общей
патологии Государственном бюджетном
образовательном учреждении высшего
профессионального образования «Сибирский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения и социального
развития Российской Федерации

Плешко Раиса Ивановна

кандидат медицинских наук, заведующая
отделением патологии беременности
акушерской клиники Федерального
государственного бюджетного учреждение
«Научно-исследовательский институт
акушерства, гинекологии и перинатологии»
Сибирского отделения Российской академии
медицинских наук

Бухарина Ирина Юрьевна

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Защита состоится «12» октября 2012 г. в 9⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при Сибирском государственном медицинском университете по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета

Автореферат разослан «7» сентября 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Герасимов А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Аутоиммунный оофорит – патологическое состояние, при котором поражаются генеративные и стероидпродуцирующие структуры яичников, что приводит к развитию овариальной недостаточности [Габелова К.А., Гзгзян А.М., Потин В.В. и соавт., 2010]. Морфологические исследования аутоиммунного оофорита предпринимались как на экспериментальных моделях, так и на клиническом материале [Taguchi O., Nishizuka Y., Sakakura T. et al., 1980; Sedmak D.D., Hart W.R., Tubbs R.R., 1987; Tung K.S., Smith S., Teuscher C. et al., 1987; Miyake T. et al., 1988; Damjanovic M., Janovic B.D., 1989; Bannatyne P., Russell P., Shearman R.P., 1990; Suh Y.L., 1992; Lewis J., 1993; Raj S., Nair S., Mastorakos G. et al., 1995; La Marca A., Brozzetti A., Sighinolfi G. et al., 2010].

Представленные в литературе экспериментальные модели аутоиммунного оофорита в основном заключаются в иммунизации лабораторных животных неочищенным экстрактом яичников интактных животных [Алексеева И.Н., Брызгина Т.М., Сухина В.С. и соавт., 2006; Jankovic B.D., Markovic B.M., Petrovic S. et al., 1973; Damjanovic M., Janovic B.D., 1989] или введением гликопротеина zona pellucida 3, полученного путем искусственного синтеза [Wood D.M., Liu C., Dunbar B.S., 1981; Skinner S.M., Mills T., Kirchick H.J. et al., 1984; Peterson M., Koothan P. Thillai, Morris Keith D. et al., 1992; Rhim S.H., Millar S.E., Robey F. et al., 1992; Fu L., Feng W., Li S.R. et al., 2007]. Также созданы модели аутоиммунного оофорита, основанные на удалении тимуса в неонатальном периоде у мышей, что сопровождается формированием аутоиммунных процессов в различных органах [Taguchi O., Nishizuka Y., Sakakura T. et al., 1980; Ivanova M., Bourneva V., Gitsov L. et al., 1984; Tung K.S., Smith S., Teuscher C. et al., 1987; Smith H. et al., 1989; Alard P., Thompson C., Agersborg S.S. et al., 2001]; изучены эффекты введения Т-лимфоцитов от здоровых мышей изогенным мышам после тимэктомии [Taguchi O., Nishizuka Y., 1980; Damjanovic M., 1991]. Большинство перечисленных моделей технически трудно воспроизводимы, при морфологическом исследовании не всегда обнаруживаются характерные признаки аутоиммунного процесса в яичниках, что затрудняет подробное изучение патологии на клеточно-тканевом уровне. Различные варианты экспериментальных моделей аутоиммунного оофорита и факторов, вызывающих характерные морфологические изменения, свидетельствуют об отсутствии единой концепции патогенеза данного заболевания.

Основной метод диагностики аутоиммунного оофорита заключается в определении концентрации антиовариальных антител в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа [Damewood M.D., Zacur H.A., Hoffman G.J. et al., 1986; Габелова К.А., Гзгзян А.М., Потин В.В. и соавт., 2010]. Антиовариальные антитела выявляют у женщин с синдромом раннего истощения яичников [Gloor E., Hurlimann J., 1984; Petrikova J., Lazurova I., 2012], полигландулярным аутоиммунным синдромом [Irvin W.J.,

Barnes E.W., 1974], синдромом поликистозных яичников [Biscotti C.V., Hart W.R., Lucas J.G., 1989; Lonsdale R.N., Roberts P.F., Trowell J.E. 1991; Petrikova J., Lazurova I., 2012]. Исследования последних лет показали, что триггером аутоиммунного оофорита могут являться воспалительные заболевания органов малого таза [Серов В.Н., Кира Е.Ф., Аполихина И.А. и соавт., 2008; Габелова К.А., Гзгзян А.М., Потин В.В. и соавт., 2010; Царегородцева М.В., 2010; Barbarino-Monnier P., 2001].

Воспалительные заболевания органов малого таза в структуре гинекологической заболеваемости составляют 60-65 % [Серов В.Н., Жаров Е.В., 2002], являются причиной формирования бесплодия, эктопической беременности, невынашивания беременности, внутриутробного инфицирования [Серов В.Н., Кира Е.Ф., Аполихина И.А. и соавт., 2008; Oroz C., Bailey H., Hollows K. et al., 2012]. Системная воспалительная реакция при хронических персистирующих инфекциях может приводить к значимым изменениям общего иммунного статуса, нарушать процесс образования антител, способствовать запуску аутоиммунных процессов [Серов В.Н., 2005; Garza K.M., Tung K.S., 1995]. Так, при воспалительных заболеваниях органов малого таза возможна продукция антиовариальных антител с развитием ановуляторного синдрома [Barbarino-Monnier P., 2001] и овариальной недостаточности в результате повреждения тканей яичника [Вербицкий М.Ш., Гоцуляк Я.Н., 1997], что является одной из причин неэффективности методов вспомогательной репродукции [Серов В.Н., Кира Е.Ф., Аполихина И.А. и соавт., 2008].

Вышесказанное обуславливает необходимость создания адекватных моделей аутоиммунного оофорита с последующим детальным изучением морфологических изменений яичников в динамике для определения дебюта формирования патологии. Принимая во внимание значение аутоиммунного оофорита в развитии многих патологических состояний, актуальным представляется изучение роли аутоиммунного компонента при других гинекологических заболеваниях в эксперименте и клиническом исследовании с учетом клеточно-тканевых механизмов формирования патологии в яичниках, в особенности при воспалительных заболеваниях органов малого таза.

Цель исследования – изучить морфофункциональное состояние яичников в различные сроки экспериментального аутоиммунного оофорита и хронического воспаления придатков матки, установить взаимосвязь клинического течения воспалительных заболеваний органов малого таза и аутоиммунного оофорита у женщин репродуктивного возраста.

Задачи исследования:

1. Разработать и воспроизвести экспериментальную модель аутоиммунного оофорита с использованием овариального антигена у белых крыс-самок.

2. Изучить выраженность и последовательность изменений структурных элементов яичника при экспериментальном аутоиммунном оофорите.

3. Оценить состояние фолликулогенеза на различных этапах формирования экспериментального аутоиммунного оофорита на основании морфологических и серологических данных.

4. Провести сравнительный анализ морфофункционального состояния яичников при аутоиммунном оофорите и хроническом воспалении придатков матки в эксперименте.

5. Оценить значение аутоиммунных процессов в яичниках у женщин репродуктивного возраста с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза.

Научная новизна. Создана экспериментальная модель аутоиммунного оофорита у белых беспородных крыс-самок. В эксперименте впервые детально изучен морфогенез аутоиммунного оофорита в динамике на тканевом и ультраструктурном уровне. Получены новые данные о сроках формирования аутоиммунного оофорита в эксперименте, в том числе на модели хронического воспаления придатков матки. Установлено, что внутрибрюшное введение экстракта из яичников вызывает повреждение текальной оболочки и овоцитов растущих фолликулов, приводящее к усилению процессов атрезии в яичниках, замедлению процессов роста и развития фолликулов. На модели хронического воспаления придатков матки показано формирование аутоиммунного процесса в яичниках на поздних сроках эксперимента. Выявлено, что у женщин на развитие аутоиммунного оофорита оказывает влияние рецидивирующее течение воспалительных заболеваний органов малого таза, в этиологии которых играют роль инфекции, передающиеся половым путем, в сочетании с проведенными ранее инвазивными вмешательствами (артифициальные аборты, диагностические выскабливания, лапаротомные операции), приводящими к формированию выраженного спаечного процесса органов малого таза.

Теоретическая и практическая значимость. Разработан «Способ моделирования аутоиммунного оофорита» (патент на изобретение № 2439712 от 10.01.12). Полученные в эксперименте данные расширяют фундаментальные знания о закономерностях морфофункциональных изменений структурных компонентов яичников при аутоиммунном оофорите, могут служить теоретической предпосылкой для создания методов диагностики с предполагаемой положительной вероятностью на ранних этапах формирования аутоиммунного оофорита и разработки новых способов лечения данной патологии.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Интраперитонеальное введение овариального антигена в эксперименте вызывает аутоиммунное поражение яичников, проявляющееся повреждением эндокриноцитов и овоцитов фолликулов в гормонозависимую стадию роста. Подобные изменения гонад обнаруживаются при сформировавшемся хроническом экспериментальном негранулематозном воспалении придатков матки.

2. Ранними клиническими проявлениями аутоиммунного поражения яичников у пациенток с воспалительными заболеваниями придатков матки

являются нарушение менструального цикла по типу олигоменореи, хроническая ановуляция при нормо- или гипергонадотропном состоянии, бесплодие, повышение концентрации антиовариальных антител, а в яичниках присутствуют характерные морфологические признаки аутоиммунного оофорита.

Внедрение. Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ по теме «Женская репродуктивная система»; на кафедре акушерства и гинекологии лечебного факультета СибГМУ по теме «Воспалительные процессы органов женской половой системы неспецифической и специфической этиологии».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 5 – в журналах, рекомендованных Президиумом ВАК для опубликования основных результатов диссертаций, получен 1 патент на изобретение.

Апробация. Материалы диссертации представлены на XII открытой итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и медицинская наука в XXI веке» (Киров, 2011), XII Международном конгрессе молодых ученых «Науки о человеке» (Томск, 2011), IV Международной научно-практической конференции «Интеллектуальный потенциал молодых ученых России и зарубежья» (Москва, 2012), IV научной конференции «Микроциркуляция в клинической практике» (Москва, 2012), XIX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2012), XI Конгресс международной ассоциации морфологов (Самара, 2012).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста, содержит 7 таблиц, 2 фотографии, 30 микрофотографий, 12 электронограмм. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы результатов собственных исследований (экспериментальной и клинической части), обсуждения результатов, выводов и библиографического списка, включающего 180 литературных источников, из которых 46 на русском и 134 на иностранных языках.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть

Эксперимент выполнен на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии (заведующий – профессор Логвинов С.В.), на базе отдела нормальной физиологии и экспериментальной хирургии ЦНИЛ (заведующий – профессор Байков А.Н.) СибГМУ. На проведение эксперимента получено разрешение Этического комитета ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава № 1231 от 21.12.2009.

Согласно поставленным задачам разработана модель аутоиммунного оофорита (АО). Получен патент на изобретение № 2439712 «Способ

моделирования аутоиммунного оофорита» от 10.01.2012 (авторы и патентообладатели: Логвинов С.В., Тихоновская О.А., Невоструев С.А., Дмитриева М.Л.). Для эксперимента использовали половозрелых беспородных белых крыс-самок массой 180-220 г. У данного вида животных овариально-менструальный цикл протекает по закономерностям, близким к таковым у женщин, к тому же в отличие от других животных у них происходит спонтанная овуляция [Лазарев Н.И., Ирд Е.А., Смирнова И.О., 1967]. Для снижения толерантности животных к инфекции эксперимент осуществляли в фазы покоя эстрального цикла – метаэструс, диэструс [Пастухов М.И., 1970; Петрова М.С., 1999; Тихоновская О.А., 2000].

Способ моделирования АО заключается в проведении иммунизации беспородных крыс-самок антигеном, представляющим собой экстракт яичников интактных животных; антиген дополнительно очищали трехкратным замораживанием, вводили крысам-самкам внутривентрально в фазе покоя эстрального цикла в дозе 20 мкг/мл пятикратно через день. Для получения экстракта под ингаляционным наркозом парами эфира интактному животному производили декапитацию. Все этапы эксперимента проводили в условиях стерильности. С помощью нижней срединной лапаротомии извлекали яичники, очищали их от жировой клетчатки и помещали в пробирку с физиологическим раствором. Яичники измельчали ножницами, с помощью гомогенизатора растирали яичниковую ткань до однородной массы, суспендированной в физиологическом растворе, и помещали полученную суспензию в пробирку. При температуре бытовой морозильной камеры (-18--20 °С) полученную взвесь замораживали трехкратно с оттаиванием до жидкой консистенции, центрифугировали в течение 15 минут при 2500 об/мин. Надосадочную жидкость фильтровали. Полученную суспензию разводили физиологическим раствором из расчета 20 мкг ткани яичника на 1 мл, разливали в пробирки и использовали для иммунизации. Хранили готовый экстракт в промышленной морозильной камере при температуре -70 °С. Срок хранения до 3 месяцев. Готовый экстракт вводили экспериментальным животным в объеме 1 мл внутривентрально при помощи инсулинового шприца с соблюдением правил асептики и антисептики пятикратно с интервалами между инъекциями один день. Разведение и доза аллоантигена подобрана эмпирически в предварительной серии опыта.

В качестве модели хронического воспаления органов малого таза был применен «Способ моделирования хронического воспаления придатков матки» [патент № 2224297, Тихоновская О.А., Невоструев С.А., Логвинов С.В.]. Моделирование хронического воспаления придатков матки (ХВПМ) заключается во введении открытым доступом в дистальную часть яйцеводов 0,1 мл суточной культуры золотистого стафилококка (штамм № 209), содержащей 50 млн микробных тел, точечном десерозировании висцеральной брюшины яйцеводов и скарификации покровного эпителия яичников.

При аутопсии визуально изучали состояние органов брюшной полости: наличие и характер выпота, состояние брюшины, величину, подвижность и положение рогов матки, яйцеводов, яичников, выраженность спаечного процесса. Отмечали характер структуры коркового слоя, наличие фолликулов, кистозных образований, кровоизлияний.

Проведено 2 серии опытов на 62 животных. Основная группа (n=36) – животные с моделью АО. Группа сравнения (n=16) – животные с моделью хронического воспаления придатков матки. С целью изучения физиологических процессов исследовали яичники интактных крыс (группа контроля; n=10).

Опытных животных выводили на 5-10-15-30-60-е сутки эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 № 755) и Федеральным законом Российской Федерации «О защите животных от жестокого обращения» от 21.03.2008.

Забор крови производили перед декапитацией в положении на спине путем внутрисердечной пункции с помощью шприца объемом 5 мл. Кровь переливали в пробирку, которую центрифугировали для получения сыворотки и хранили при температуре -20°C. В сыворотке крови опытных животных определяли концентрацию антиовариальных антител (АОА), ингибина В и антимюллеровского гормона (АМН) методом иммуноферментного анализа (ИФА) в лаборатории ООО «ДиаТомПлюс», г. Томск (BIOSERV Diagnostics GmbH, Германия; Diagnostic system laboratories, Inc., Техас).

Для оценки морфологических изменений аутопсийного экспериментального материала (объект исследования – яичники крыс) был использован комплекс гистологических и гистохимических методик. Яичники фиксировали в жидкости Карнуа и 12-процентном нейтральном формалине с последующей проводкой и заливкой в парафин. Депарафинированные срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван Гизону для выявления соединительной ткани. Гликопротеиды и нейтральные полисахариды определяли с помощью ШИК-реакции по MacManus, РНК – с помощью окраски по Браше. Для выявления тканевых базофилов использована окраска толуидиновым синим. Полученные препараты просматривали на микроскопе Биолам ЛОМО. Цифровые фотографии получали при помощи микроскопа «AXIOSTAR APLAN» (Carl Zeiss Inc., Германия) с блоком фотодокументирования на основе цветного цифрового фотоаппарата Canon G10 (© Canon Inc.), обрабатывали в графическом редакторе AxioVision Rel. 4.8 (Carl Zeiss GmbH, Германия). Для оценки морфологических изменений в яичниках проводили морфометрию в соответствии с руководством Г.Г. Автандилова (1990). Подсчет удельного объема примордиальных и растущих фолликулов, атретических фолликулов и тел, желтых тел проводили на серийных срезах

через каждые 150-200 мкм с использованием окулярной измерительной сетки, представляющей большой квадрат, содержащий 25 точек. Подсчитывали среднее содержание структурных элементов в срезе яичника.

Для электронной микроскопии яичники, взятые на 5-е и 30-е сутки эксперимента, фиксировали в 2,5-процентном глутаральдегиде, забуференном на 0,2 М какодилатном буфере (рН 7,2) по D.D. Sabatini, K. Bensch, R.G. Barrnet (1963) при температуре 4°C с последующей постфиксацией в 1-процентном растворе четырехокси осмия в течение 4 часов, дегидратацией в спиртах возрастающей крепости и заливкой в аралдит (срезы приготавливались ультратомом «ЛКВ», Швеция). Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим, ультратонкие контрастировали уранилацитатом и цитратом свинца. Готовые препараты просматривали и фотографировали в электронном микроскопе «JEM-100 CXII» («JEOL», Япония) с апертурной диафрагмой 25-30 мкм при ускоряющем напряжении 80 кВ и JEM-7A (Япония).

Клиническая часть

Проведено ретроспективное исследование с изучением историй болезней женщин репродуктивного возраста (n=83), находившихся на лечении в гинекологической клинике ГБОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России и Первой частной клинике г. Томска в 2007-2011 гг. На проведение исследования получено разрешение Этического комитета ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава № 1231 от 21.12.2009. Для оптимизации исследования и снижения вероятности систематической ошибки, связанной с отбором, использовался метод ограничений. Были сформированы критерии включения / исключения в исследование.

Критерии включения: 1) наличие минимальных, дополнительных и доказательных критериев хронических воспалительных заболеваний органов малого таза (ХВЗОМТ); 2) бесплодие с установленными согласно протоколу ВОЗ факторами бесплодия – приобретенная патология генитального тракта; 3) возраст до 35 лет.

Критерии исключения: 1) несоответствие критериям включения; 2) эндометриоз; 3) заболевания щитовидной железы с нарушением функции; 4) гиперпролактинемия; 5) надпочечниковая форма гиперандрогенемии; 6) гинекологические заболевания, требующие оргауноносящего оперативного лечения; 7) системные заболевания; 8) онкологические заболевания любых локализаций; 9) соматическая патология в стадии субкомпенсации и декомпенсации.

Диагностический алгоритм включал клиническое обследование с учетом жалоб, анамнеза развития и особенностей клинического течения заболевания, данных соматического и гинекологического статуса, стандартных лабораторных исследований, микробиологических анализов влагалищного секрета и цервикальной слизи (бактериоскопия, ПЦР-диагностика), мазков на онкоцитологию с шейки матки. С целью оценки

гормонального статуса и анализа овариального потенциала у всех пациенток учитывали содержание в сыворотке крови ФСГ, ЛГ, пролактина, эстрадиола, прогестерона, тестостерона, ДГА-S, ТТГ, АОА, ингибина В и АМН, определенное методом ИФА (BIOSERV Diagnostics GmbH (Германия), Diagnostic system laboratories, Inc. (Техас); «ДиаТомПлюс», Томск). Также оценивали заключения ультразвукового сканирования органов малого таза с учетом состояния фолликулярного аппарата и объема яичников (аппарат SSD-3500, HITACHI ALOCA Medical (Япония)). Для определения доказательных критериев ХВЗОМТ изучены протоколы гистероскопического исследования и лапароскопических операций, данные гистологического исследования биопсийного материала, а также пересмотрены гистологические препараты архивного материала (депарафинированные срезы толщиной 5-6 мкм, окрашенные гематоксилином и эозином).

Группы исследования сформированы в зависимости от результатов лапароскопических, гистероскопических и гистологических заключений. Основную группу (n=32) составили пациентки, имеющие выраженные проявления хронического воспалительного процесса органов малого таза: спаечный процесс малого таза III-IV степени, хронический облитерирующий сальпингит, признаки хронического эндометрита. В группу сравнения (n=33) включены пациентки, у которых выраженность воспалительного процесса была невысокой: спаечный процесс малого таза I-II степени, хронический необлитерирующий сальпингит, признаки хронического эндометрита без фиброза стромы. Группу контроля составили 18 условно здоровых женщин без оперативных вмешательств на органах малого таза.

Статистические методы

Статистическую обработку полученных результатов выполняли на персональном компьютере с использованием программы SPSS® 17.0 (© SPSS Inc.). Данные анализировали методами описательной (дескриптивной) статистики. Перед выбором статистических критериев проверку на соответствие выборок нормальному закону распределения проводили с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Вилка. В случае нормального распределения данные оценивали с учетом средней арифметической ряда (M) и стандартного квадратичного отклонения (σ); для оценки достоверности различий использован параметрический метод (t-критерий Стьюдента). При распределении значений показателей, не соответствующих нормальному, данные представлены в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го перцентиля (Q_1 и Q_3 соответственно); для оценки достоверности различий применен непараметрический метод (U-критерий Манна-Уитни). При уровне значимости $p \leq 0,05$ различия считали достоверными (статистически значимыми). При $p > 0,05$ различия считали не обоснованными. Анализ качественных независимых данных проводили с использованием χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера (при ожидаемой частоте значения меньше 5).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологические и ультраструктурные изменения яичников крыс при экспериментальном аутоиммунном оофорите

При аутопсии яичников крыс во все сроки экспериментального АО регистрируется наличие серозно-геморрагического экссудата в небольшом количестве, гиперемия маточных рогов, яйцеводов и яичников. Спаечный процесс, как правило, не наблюдается. Поверхность яичников не имеет характерного рисунка, отмечается гладкая поверхность или обнаруживаются кисты.

Морфологические изменения нарастают постепенно и имеют стадийный характер. На ранних сроках эксперимента отмечается умеренный отек интерстициальной ткани. Лимфоплазмоцитарная инфильтрация на 5-е сутки эксперимента слабо выражена. Мононуклеары обнаруживаются периваскулярно в мозговом веществе яичника. Растущие фолликулы сохраняют обычное строение.

На 10-15-е сутки растущие фолликулы претерпевают изменения в виде дисконформации фолликулярного эпителия. Определяется отек цитоплазмы овоцитов и укрупнение ядрышка. Инфильтративные изменения становятся выраженными, мононуклеары обнаруживаются периваскулярно и в окружении растущих фолликулов. Нарушения гемодинамики проявляются стазом форменных элементов с явлениями тромбоза. Увеличивается содержание атретических тел и фолликулов.

К 30-м суткам эксперимента происходит окончательное формирование морфологической картины АО. Овоциты большинства растущих фолликулов разрушены. Внутренняя и наружная текальная оболочка инфильтрирована. При постановке ШИК-реакции наблюдается неравномерная толщина блестящей зоны растущих фолликулов с дегенеративно измененными овоцитами. В сосудах венозного типа отмечается резко выраженное застойное полнокровие, стаз форменных элементов с прикраевым расположением лейкоцитов и миграцией их через сосудистую стенку в интерстиций.

На 60-е сутки эксперимента также определяется характерная морфологическая картина АО. Однако отмечается большее, чем в предыдущие сроки эксперимента, содержание вторичных фолликулов. Гемодинамические изменения представлены умеренным полнокровием сосудов венозного типа. Сохраняется стаз форменных элементов, а также в отдельных сосудах мозгового вещества яичника встречаются явления пролиферации клеток эндотелия.

Во все сроки эксперимента в инфильтрате при окраске срезов по Браше обнаруживаются плазмоциты. При окраске толуидиновым синим дегранулирующие тканевые базофилы выявляются чаще на ранних сроках развития АО, но присутствуют в инфильтрате вплоть до 60-х суток эксперимента. В 15% биоптатов обнаруживаются фолликулярные кисты,

чаще формирующиеся на этапе граафова пузырька. Реже выявляются кисты с лютеинизированной стенкой.

Интерес вызывает трансформация покровного эпителия яичников. Мезотелиоциты становятся кубической формы, а иногда приобретают призматическую конфигурацию, тогда как в контрольной группе мезотелий состоит из плоских клеток. При этом толщина белочной оболочки не изменяется.

Примордиальные фолликулы во все сроки эксперимента имеют обычное строение и не отличаются от таковых в группе контроля.

При электронной микроскопии выраженные изменения выявлены на 30-е сутки эксперимента и проявляются деструкцией эндокриноцитов внутренней и наружной текальной оболочки растущих фолликулов и эндотелиоцитов сосудов микроциркуляторного русла. В наружной и внутренней текальной оболочке обнаруживаются клетки макрофагального ряда. Ядра деструктивно измененных текоцитов пикнотичны, с неравномерно высокой электронной плотностью кариоплазмы. Ядерная оболочка большей частью разрушена. Цитоплазма описываемых клеток характеризуется низкой электронной плотностью и почти не содержит органелл. Эндотелий капилляров в мозговом и корковом веществе яичников снабжен немногочисленными микроворсинками на люминальной поверхности (рис. 40). Цитоплазма эндотелиоцитов содержит отечные митохондрии, эндоплазматическую сеть с расширенными цистернами, небольшое количество микровезикул. Базальная мембрана в некоторых капиллярах имеет неравномерную толщину. Реже встречаются эндотелиоциты гемокапилляров с выраженным отеком митохондрий, деструкцией их крист, фрагментацией цистерн эндоплазматической сети, накопление большого количества лизосом.

Таким образом, сформированная морфологическая картина АО выявлена на 30-е сутки эксперимента. Основные деструктивные изменения определяются в растущих фолликулах. Отмечается повреждение их стероидсинтетических структур и овоцитов.

Морфологические изменения яичников крыс с моделью хронического воспаления придатков матки

При вскрытии брюшной полости на 30-е сутки эксперимента выявляется умеренно выраженный спаечный процесс; брюшина, маточные рога, яйцеводы и яичники умеренно гиперемированы. К 60-м суткам эксперимента спаечный процесс носит выраженный характер: многочисленные спайки окружают яичники, яйцеводы, маточные рога, иногда вовлекая в процесс сальник и петли кишечника. Яйцеводы и дистальные отделы маточных труб изменены по типу гидросальпинкса.

К 30-м суткам эксперимента при изучении гистологических препаратов выявлено полнокровие сосудов венозного типа с явлениями стаза форменных элементов крови, прикраевого расположения лейкоцитов и

миграцией их через сосудистую стенку. В мозговом веществе обнаруживаются лимфоплазмоцитарные инфильтраты, а также скопления тканевых базофилов с явлениями дегрануляции. Небольшая часть растущих фолликулов характеризуется дегенеративными изменениями. Овоциты в них деструктивно изменены, фолликулярный эпителий дисконкомплексован. Чаще, чем в группе контроля, встречаются атретические фолликулы и тела.

На 60-е сутки эксперимента наряду с перечисленными нарушениями отмечаются склеротические изменения в корковом и мозговом веществе яичников, стенки большинства сосудов утолщены. Генеративный аппарат характеризуется значительными процессами атрезии растущих фолликулов. Сами фолликулы также подвержены дегенеративным изменениям в виде деструкции овоцита, дисконкомплексации фолликулярного эпителия.

Таким образом, при моделировании ХВПМ яичники подвергаются глубоким деструктивным изменениям с поражением растущих фолликулов и выраженными гемодинамическими нарушениями.

При сравнении морфологических изменений яичников крыс двух моделей можно сделать вывод о том, что развитие ХВПМ сопровождается включением в воспалительный процесс элементов аутоиммунного поражения яичников – мононуклярная инфильтрация в периваскулярной области, деструктивные изменения овоцита.

Морфоколичественное исследование яичников крыс с моделями аутоиммунного оофорита и хронического воспаления придатков матки

Исследование яичников интактных животных группы контроля показало отсутствие значимой динамики возрастных изменений в течение срока проводимого эксперимента, поэтому представлены усредненные значения показателей.

При моделировании АО обращало на себя внимание уменьшение среднего количества вторичных фолликулов в срезе яичников в течение 30 суток эксперимента: 2,55 (1,31-3,08) на 30-е сутки при 3,45 (3,33-4) в контроле ($p < 0,05$). К 60-м суткам эксперимента этот показатель резко возрастал и составлял 5,31(3,24-6,92), тогда как содержание первичных фолликулов к 60-м суткам уменьшалось. Также немаловажно повышение содержания атретических тел и фолликулов к 10-м и 15-м суткам эксперимента – 7,75(3,94-12,18) с последующим их уменьшением к 30-м суткам – 4,0(3,63-4,62), при 1,5(0,9-2,71) в группе контроля ($p < 0,05$). На 30-е сутки эксперимента не обнаруживались третичные фолликулы. А также снижалось среднее количество в срезе желтых тел с 6,35 (4,15-7,73) на 5-е сутки до 3,5 (2,53-6,63) к 60-м суткам эксперимента.

При моделировании ХВПМ лишь к 60-м суткам эксперимента сокращается содержание первичных и вторичных фолликулов - 2,0 (1,13-2,84) и 2,33(1,4-3,17) соответственно $p < 0,05$ при сравнении с показателями контроля.

При стереометрическом исследовании на 5-е сутки экспериментального АО удельный объем первичных и вторичных фолликулов достоверно ниже, чем в контроле, тогда как на 10, 15, 30-е сутки эксперимента от контроля отличается лишь удельный объем вторичных фолликулов (табл. 1). Удельный объем атретических тел и фолликулов достоверно выше названного показателя в контроле, при этом максимальный удельный объем атретических тел и фолликулов зафиксирован на 15-е сутки эксперимента. К 30-м суткам этот показатель уменьшается, но остается выше, чем в группе контроля. Удельный объем желтых тел снижается к 30-м суткам в 1,5 раза. Удельный объем сосудистых элементов к 30-м суткам резко возрастает в 5 раз. Удельный объем интерстициальной ткани не отличается от данного показателя в контроле во все исследованные сроки эксперимента. Такое распределение удельного объема интерстициальной ткани и основных структурно-функциональных элементов яичника, прежде всего, связано с избыточным образованием атретических тел и фолликулов и уменьшением удельного объема вторичных фолликулов.

Показатели стереометрического анализа значительно меняются к 60-м суткам эксперимента. Удельный объем вторичных фолликулов становится выше в 2 раза, чем в группе контроля, и в 4,5 раза превосходит данный показатель, зафиксированный на 30-е сутки эксперимента, тогда как удельный объем первичных фолликулов к 60-м суткам уменьшается в 2 раза. Третичные фолликулы отсутствуют в срезах. Удельный объем желтых тел также становится ниже, чем в группе контроля. Удельный объем сосудов остается выше такового в контроле, но уменьшается в 2 раза в сравнении с этим показателем, зарегистрированным на 30-е сутки эксперимента. Данные стереологического исследования указывают на временное сокращение удельного объема вторичных фолликулов за счет атретических процессов с последующим восстановлением и избыточным созреванием вторичных фолликулов к 60-м суткам эксперимента при снижении удельного объема атретических тел и фолликулов.

Среднее содержание примордиальных фолликулов в срезах яичников во все сутки эксперимента не отличается от такового в группе интактных животных, соответственно не изменяется и их удельный объем.

Таким образом, при АО изменениям первоначально подвергаются вторичные фолликулы, что проявляется нарушением процессов роста и развития и усилением атретических процессов. Повреждение вторичных фолликулов можно считать дебютом формирования стероидсинтетической недостаточности яичников и деструкции овоцитов. Нарушение процессов фолликулогенеза приводит к невозможности формирования преовуляторных фолликулов.

Показатели удельного объема генеративных элементов при моделировании ХВПМ несколько отличаются от таковых в основной группе с моделью АО в одинаковые сроки эксперимента (табл. 1). Так, к 30-м суткам экспериментального ХВПМ удельные объемы первичных и вторичных

Таблица 1.

Динамика удельного объема структурно-тканевых элементов яичников крыс при экспериментальном аутоиммунном оофорите и хроническом воспалении придатков матки в различные сроки опыта (Ме (Q₁-Q₃), %)

Серии экспериментов	Сроки опыта, сутки	Первичные фолликулы	Вторичные фолликулы	Третичные фолликулы	Атретические фолликулы и тела	Желтые тела	Сосуды	Интерстициальная ткань
Интактные (контроль)		0,94 (0,82-2,35)	5,69 (3,63-8,69)	9,43 (7,72-11,23)	1,37 (0,45-2,16)	50,84 (40,65-55,46)	2,64 (2,01-3,66)	30,66 (23,78-36,38)
Модель аутоиммунного оофорита (основная группа)	5	0,89 (0,76-1,18)	2,09* (1,91-5,68)	14,04 (8,22-26,3)	2,4* (1,59-3,33)	52,29 (32,7-58,5)	4,2 (2,84-7,43)	25,05 (21,76-36,44)
	10	1,17 (1,13-1,49)	2,2* (0,4-2,81)	7,08 (1,85-22,02)	12,1* (8,7-17,07)	46,17 (36,08-53,05)	1,7 (0,27-3,67)	18,5 (12,91-30,75)
	15	1,14 (0,91-2,01)	1,14* (0,46-2,11)	11,81 (11,09-15,28)	13,91* (6,93-18,6)	37,58 (32,95-52,82)	1,01 (0,67-3,24)	20,94 (14,42-31,33)
	30	1,13 (0,52-1,37)	2,54*^ (1,37-4,81)	6,4 (3,15-11,74)	5,51* (2,66-7,86)	36,0* (29,85-43,59)	10,89*^ (5,33-15,1)	36,49 (29,54-43,41)
	60	0,4* (0,14-0,89)	11,98*^ (7,82-14,75)	0*^	3,36* (2,24-7,3)	38,68*^ (30,38-47,47)	5,53* (4,56-8,92)	30,92 (22,5-34,48)
Модель воспаления придатков матки (группа сравнения)	30	0,81 (0,61-1,45)	5,97 (3,49-9,83)	11,87 (8,51-12,34)	3,37* (2,28-3,59)	36,77* (26,12-48,07)	6,88* (5,07-9,00)	36,93 (30,79-38,36)
	60	0,31* (0,12-0,68)	1,59* (1,22-1,99)	11,41 (7,46-20,5)	4,51* (2,67-6,33)	50,03 (25,77-55,77)	5,01* (3,68-7,63)	25,51 (20,42-42,37)

Примечания: * - $p < 0,05$ при сравнении с группой контроля; ^ - $p < 0,05$ при сравнении с группой сравнения, где p - уровень значимости критерия Манна-Уитни

фолликулов не отличаются от значений в контрольной группе, тогда как к 60-м суткам эксперимента эти показатели достоверно уменьшаются в 3 раза. Удельный объем третичных фолликулов не меняется в течение эксперимента. Удельный объем атретических тел и фолликулов увеличивается в 2 и 3 раза на 30-е и 60-е сутки эксперимента соответственно. Удельный объем желтых тел уменьшается к 30-м суткам и сопоставим с данным показателем в группе контроля к 60-м суткам экспериментального ХВПМ.

Таким образом, при моделировании ХВПМ выявлены признаки нарушения роста вторичных фолликулов вследствие их деструктивных изменений и последующих атретических процессов. Однако изменений процессов роста и развития растущих фолликулов не выявлено.

Сравнительный анализ показателей гормонального исследования моделей аутоиммунного оофорита и хронического воспаления придатков матки

При исследовании сыворотки крови экспериментальных животных с моделью АО значимое увеличение концентрации АОА выявлено на 30-е и 60-е сутки опыта - 10,29 (9,44-11,26) и 14,07 (12,23-22,78) нг/мл соответственно, при 1,19 (0,27-2,45) нг/мл в контроле, $p < 0,05$. Концентрация ингибина В достоверно увеличивается в 2 раза к 60-м суткам эксперимента – 237,96 (148,91-569,34) пг/мл и соответствует его концентрации в группе контроля – 73,01 (57,80-85,77) пг/мл, в более ранние сроки. Концентрация АМН в сыворотке крови основной группы во все сутки эксперимента достоверно не отличается от такового в группе контроля – 2,57 (2,0-2,53) нг/мл.

На 30-е и 60-е сутки эксперимента в группе с моделью ХВПМ концентрация АОА достоверно выше, чем в группе контроля, и составляет 3,75 (3,03-4,23) нг/мл, однако не достигает такого высокого значения, как в группе с моделью АО (рис. 1). В группе сравнения концентрация ингибина В снижается к 30-м суткам, однако к 60-м суткам эксперимента данный показатель не отличается от контроля. Концентрация АМН в основной группе и на 30-е, и на 60-е сутки эксперимента достоверно выше данного показателя в группе контроля, тогда как концентрация АМН в сыворотке крови животных с моделью АО не отличалась от такового в контроле.

При моделировании АО морфологические признаки формирования аутоиммунного процесса к 30-м суткам подтверждаются высокой концентрацией АОА в сыворотке крови экспериментальных животных. Нами установлено, что в эксперименте происходит достоверное увеличение концентрации ингибина В к 60-м суткам АО в 3 раза. Данный факт может быть подтверждением гипотезы С.К. Welt, А. Falorni, А.Е. Taylor (2005), А. Tsigkou, S. Marzotti, L. Borges et al. (2008), согласно которой при АО первоначально происходит поражение текальных клеток, а клетки гранулёзы

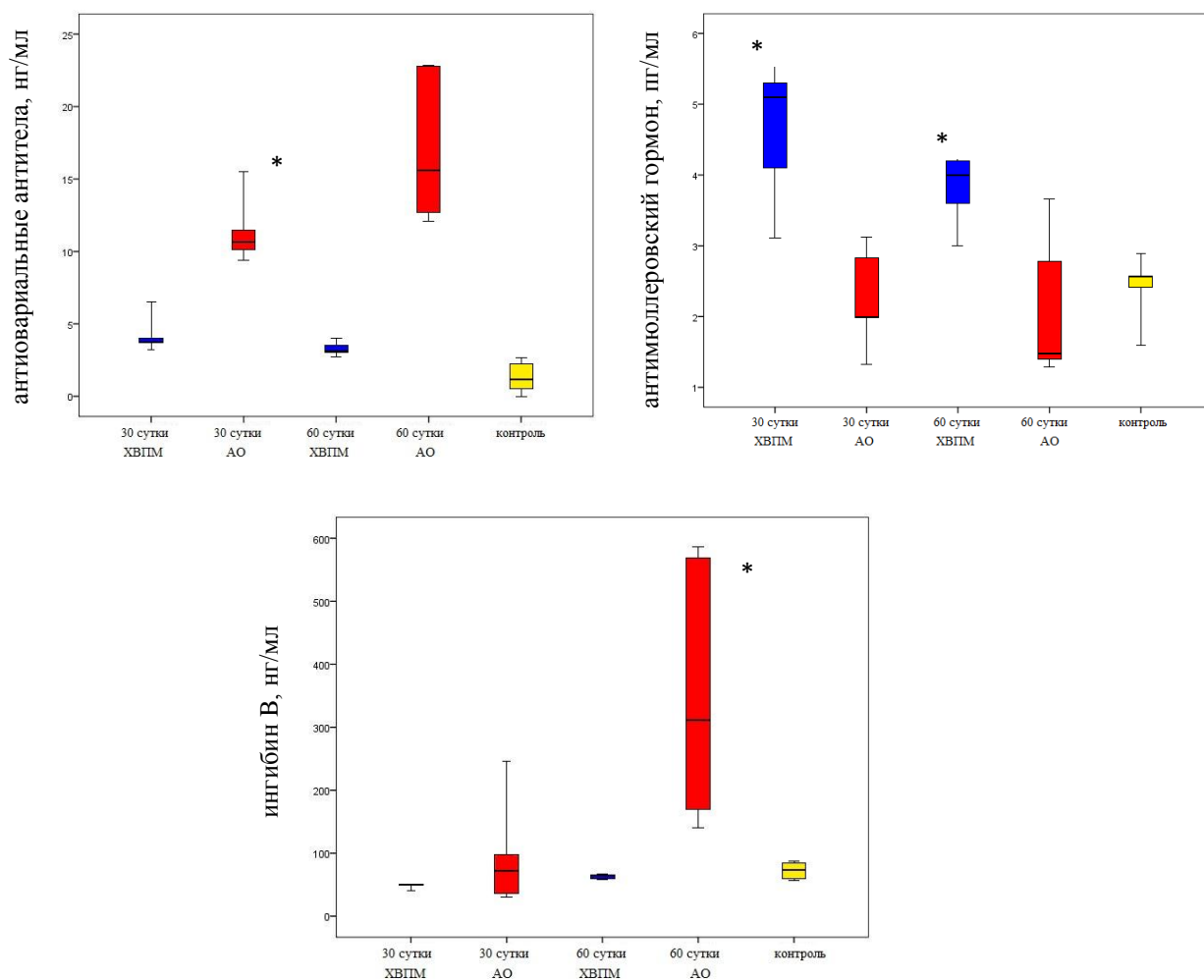


Рис. 1. Концентрация ангиовариальных антител, антимюллеровского гормона и ингибина В в сыворотке крови животных с моделью аутоиммунного оофорита (АО) и хронического воспаления придатков матки (ХВПМ) на 30-е и 60-е сутки эксперимента. * - $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля.

остаются длительно интактными. В клетках теки фолликулов происходит выработка андрогенов (андростендиона) посредством активации лютеинизирующим гормоном фермента, катализирующего процесс превращения холестерина в прегненолон, а затем в андростендион. Образование эстрогенов яичников происходит под воздействием ФСГ в клетках гранулёзы посредством ароматизации андростендиона. В клетках теки может синтезироваться очень небольшое количество эстрогенов. Таким образом, при АО повреждается морфологический субстрат синтеза эстрадиола. В условиях дефицита эстрадиола по механизму отрицательной обратной связи происходит увеличение секреции ФСГ. Косвенным подтверждением указанных нарушений является увеличение концентрации ингибина В в сыворотке крови экспериментальных животных в ответ на повышение концентрации ФСГ, так как ингибин В подавляет секрецию ФСГ [Гузов И.И., 2009; Назаренко Т.А., 2011; Tsepelidis S., Devreker F., Demeestere I. et al., 2007]. Не исключено, что увеличение концентрации ингибина В

связано с увеличением удельного объема вторичных фолликулов, клетки гранулезы которых также способны синтезировать данный гликопротеин.

При экспериментальном ХВПМ выявляются признаки, характеризующие начальные проявления аутоиммунного процесса в яичниках, подтвержденные относительным увеличением концентрации АОА по сравнению с интактным контролем. Патологическим изменениям подвержены первичные и вторичные фолликулы, клетки гранулезы которых способны синтезировать ингибин В. Механизм увеличения синтеза АМН остается неясен. Возможно, при сокращении когорты растущих фолликулов в результате процессов атрезии, увеличение синтеза АМН происходит для торможения процессов рекрутирования примордиальных фолликулов и сохранения репродуктивного потенциала яичников [Durlinger A.L.L., Gruijters M.J.G., Kramer P. et al., 2002].

Сравнительная клиничко-лабораторная характеристика пациенток с воспалительными заболеваниями органов малого таза

Для выявления аутоиммунного компонента при воспалительных заболеваниях органов малого таза (ВЗОМТ) в зависимости от степени выраженности воспалительного процесса проведен сравнительный клиничко-лабораторный анализ пациенток. Средний возраст исследуемых женщин основной группы и группы сравнения составляет $29,0 \pm 3,88$ (22-35) года, при $28,07 \pm 3,81$ года в контроле, $p=0,402$.

Показаниями для госпитализации пациенток и проведения лечебно-диагностической лапароскопии и гистероскопии являлись бесплодие с предполагаемым трубно-перитонеальным фактором (100%) и синдром хронических тазовых болей (50,8%). Оперативные вмешательства в анамнезе на органах малого таза перенесли 37 (56,9%) пациенток, показаниями для которых явились кисты яичников (27,7%), острый аппендицит (13,9%), трубная беременность (13,9%), миома матки (12,3%), бесплодие (10,8%). Объем оперативного вмешательства при кистах яичников ограничивался цистэктомией; у трех пациенток при трубной беременности удалена маточная труба, в шести случаях произведена сальпинготомия и келифэктомия.

Установлено, что каждая пациентка имела в анамнезе ВЗОМТ, при этом в основной группе количество эпизодов - 2,0 (1,0-2,0) и длительность заболевания - 5,0 (5,0-6,0) лет выше, чем в группе сравнения: 1,0 (1,0-1,0); $p=0,001$ и 5,0 (4,0-5,0) лет, $p=0,003$, соответственно. Бесплодие выявлено у 65 (100%) женщин: первичное в 19 (29,2%), вторичное в 46 (70,8%) случаев. Продолжительность бесплодия в группах исследования не отличалась и составляла в среднем 5,0 (3,0-5,0) лет (минимальная продолжительность – 1,5 года, максимальная – 13 лет).

Нарушения менструального цикла выявлены у 49 (75,4%) женщин и одинаково часто встречались в основной группе и группе сравнения; в виде олигоменореи (40%); меноррагии (10,8%), менометроррагии (20%). Однако у

пациенток с выраженным воспалительным процессом органов малого таза (основная группа) достоверно чаще наблюдалась олигоменорея (χ^2 Пирсона=13,3, $p=0,001$), тогда как в группе сравнения – менометроррагия (χ^2 Пирсона=4,45, $p=0,035$). Каждая третья больная обеих групп отмечала наличие дисменореи. У 50,8% пациенток выявлен синдром хронических тазовых болей, одинаково часто встречающийся в основной группе и группе сравнения.

При постановке этиологического диагноза по результатам ПЦР-диагностики установлено превалирование микст-инфекции - 26 случаев (40%), при этом достоверно чаще в основной группе исследования (χ^2 Пирсона=9,859, $p=0,002$). Вместе с тем в группе сравнения достоверно чаще диагностирован хламидиоз в виде моноинфекции (χ^2 Пирсона=6,244, $p=0,012$). У 1 пациентки основной группы ранее был диагностирован сифилис.

При ультразвуковом сканировании органов малого таза объем яичников менее 8 см³ отмечен у 32 (49,23%) пациенток. У 35 (53,85%) женщин диаметр растущих фолликулов не превышал 8 мм в середине менструального цикла. Уменьшение объема яичника, количества растущих фолликулов и их диаметра встречались одинаково часто как в основной группе, так и в группе сравнения.

Обращает на себя внимание высокая частота сопутствующей гинекологической патологии, выявленной при лапароскопии и гистероскопии. У пациенток вне зависимости от выраженности воспалительного процесса в 46,2% диагностированы доброкачественные гиперпластические процессы эндометрия, в 69,2% - функциональные кисты яичников. Миома матки малых размеров в виде мелких субсерозных и интерстициальных миоматозных узелков с бессимптомным клиническим течением выявлена в 26,2% случаев.

При оценке гормонального статуса выявлено относительное увеличение концентрации ФСГ и уменьшение эстрадиола, которые имеют достоверные отличия от показателей как в группе контроля, так и в группе сравнения (табл. 2), хотя не превышают популяционные референсные значения ФСГ и эстрадиола женщин репродуктивного возраста. Значения концентрации АОА также достоверно выше у пациенток с выраженным хроническим воспалением генитального тракта и тяжелой степенью спаечного процесса и в 2 раза превышают аналогичные показатели условно здоровых женщин группы контроля. Оценивая данные серологических маркеров овариального резерва (табл. 2), следует отметить достоверное снижение ингибина В в основной группе до 106,3 пг/мл при неизменном АМГ во всех группах обследованных женщин.

При анализе протоколов патоморфологического исследования и гистологического изучения биопсийного материала женщин основной группы, страдающих тяжелой формой ХВЗОМТ, морфологическая картина изменений в яичниках характеризовалась хроническим продуктивным

Таблица 2.

Концентрация половых гормонов, АОА и маркеров овариального резерва у женщин с ВЗОМТ (Ме (Q₁-Q₃))

	I основная группа (n=32)	II основная группа (n=33)	Группа контроля (n=18)
АОА, нг/мл	6,4* [^] (4,1-7,6)	4,0 (2,0-6,4)	3,1 (2,66-4,0)
Ингибин В, пг/мл	106,3* [^] (92,0-118,0)	124,0 (115,0-130,0)	126,0 (120,0-128,0)
АМН, нг/мл	3,4 (2,8-8,0)	3,5 (3,0-4,0)	3,2 (3,0-3,8)
ФСГ, МЕ/мл	8,9* [^] (6,8-12,05)	7,2* (4,3-8,0)	3,6 (3,1-5,3)
ЛГ, МЕ/мл	5,85* (4,28-12,05)	6,2* (4,2-15,0)	3,8 (2,8-4,8)
Эстрадиол, нмоль/л	155,5* (87,18-262,13)	216,8 (125,4-271,0)	226,0 (186,5-284,0)
Тестостерон, нмоль/л	2,8 (2,2-3,8)	2,0 (1,2-3,1)	3,1 (2,1-3,3)

Примечание: * - достоверные различия ($p \leq 0,05$) при сравнении с показателями группы контроля, [^] - достоверные различия ($p \leq 0,05$) при сравнении I и II основных групп.

воспалением с элементами аутоиммунного компонента, проявляющимся мононуклеарной инфильтрацией в корковом и мозговом слое, деструкцией овоцитов в растущих фолликулах, сокращением числа примордиальных фолликулов, формированием фолликулярных кист и кист желтого тела, диффузно-очаговым фиброзом. При гистологическом изучении биопсийного материала яичников женщин с ВЗОМТ группы сравнения выявлялись изменения по типу хронического оофорита: в мозговом веществе определялся выраженный диффузный фиброз со склерозированием сосудистой стенки, мононуклеарная инфильтрация не характерна, корковый слой беден растущими фолликулами.

При изучении клинико-серологического статуса пациенток с ВЗОМТ в зависимости от выраженности спаечного процесса было выявлено, что длительное, часто рецидивирующее течение ВЗОМТ, в этиологии которых играет роль ИППП, наличие в анамнезе инвазивных вмешательств (артифициальные аборты, диагностические выскабливания, лапаротомные операции) приводят к начальному формированию АО, сопровождаются повреждением фолликулярного аппарата яичника с последующим изменением его стероидосинтетической функции. Так, у женщин с выраженным спаечным процессом и высокой концентрацией АОА, наблюдается относительное снижение концентрации эстрадиола и повышение ФСГ, концентрация ингибина В также снижена в пределах популяционных референсных значений, что может свидетельствовать о начальном повреждении стероидосинтетических структур растущих фолликулов. Изменений концентрации АМН у пациенток с ВЗОМТ не

выявлено; вероятно, при начальном формировании АО повреждаются лишь антральные фолликулы диаметром более 6 мм, что приводит к нарушению заключительной дифференцировки преовуляторных фолликулов.

ВЫВОДЫ

1. Внутривнутрибрюшное введение овариальных антигенов белым половозрелым крысам-самкам пятикратно в дозе 20 мкг/мл вызывает аутоиммунный оофорит с 5-х суток эксперимента, который проявляется периваскулярной лимфоплазмодитарной инфильтрацией, распространяющейся в дальнейшем (15-30-е сутки) на наружную и внутреннюю теку растущих фолликулов и сопровождающейся деструкцией эндокриноцитов внутренней теки и овоцитов.
2. При экспериментальном аутоиммунном оофорите изменения фолликулогенеза проявляются на 15-30-е сутки в гормонозависимую стадию уменьшением содержания вторичных и третичных фолликулов более чем в 2 раза, усилением атретических процессов, а на 60-е сутки - признаками нарушения окончательной дифференцировки преовуляторных фолликулов. Нарушения фолликулогенеза сопровождаются увеличением концентрации ингибина В в сыворотке крови экспериментальных животных на 60-е сутки, что является начальным этапом дезорганизации стероидогенеза.
3. При моделировании хронического негранулематозного воспаления придатков матки на поздних сроках опыта (30-е и 60-е сутки) выявляются морфологические признаки аутоиммунного процесса в яичниках в виде периваскулярной лимфоплазмодитарной инфильтрации, деструкции овоцитов, а в сыворотке крови экспериментальных животных определяется высокая концентрация антиовариальных антител; аналогичные изменения наблюдаются при экспериментальном аутоиммунном оофорите на 15-е и 30-е сутки.
4. У женщин репродуктивного возраста часторецидивирующее течение воспалительных заболеваний органов малого таза (спаечный процесс малого таза III-IV степени, хронический облитерирующий сальпингит и хронический эндометрит), в этиологии которых играют роль инфекции, передающиеся половым путем, наличие в анамнезе инвазивных вмешательств способствуют формированию аутоиммунного оофорита с характерными морфологическими признаками, который клинически проявляется олигоменореей, хронической ановуляцией, увеличением концентрации фолликулостимулирующего гормона и антиовариальных антител в сыворотке крови.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациенток репродуктивного возраста с воспалительными заболеваниями органов малого таза для оценки степени нарушения стероидосинтетической функции яичников и состояния овариального резерва

показано определение фолликулостимулирующего гормона, ингибина В, антимюллеровского гормона и антиовариальных антител.

2. В протокол лечения пациенток с бесплодием, фактором которого является приобретенная патология генитального тракта воспалительного генеза, после лечебно-диагностической лапароскопии необходимо включать препараты, подавляющие овуляцию (комбинированные оральные контрацептивы, агонисты гонадолиберина и др.), с целью ограничения аутоиммунного компонента воспаления (поскольку при данной патологии первоначально поражаются фолликулы в гормонозависимую стадию роста диаметром 8-12 мм) и сохранения репродуктивного потенциала.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Дмитриева М.Л. Гемодинамические нарушения при экспериментальном аутоиммунном оофорите [Текст] // Сборник статей по материалам XII Российского конгресса молодых ученых с международным участием под редакцией Огородовой Л.М., Капилевича Л.В. – Томск, 2011. – С. 60-61.
2. Дмитриева М.Л. Состояние генеративного аппарата яичников при экспериментальном аутоиммунном воспалении [Текст] / Дмитриева М.Л., Невоструев С.А. // Материалы XII открытой итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и медицинская наука в XXI веке». – Киров, 2011. – С. 5-6.
3. Дмитриева М.Л. Морфофункциональное состояние яичников при экспериментальном аутоиммунном оофорите [Текст] / Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Теплова Н.В. и др. // **Мать и дитя в Кузбассе**. – Спецвыпуск № 1. – 2011. – С. 205-209.
4. Дмитриева М.Л. Аутоиммунный компонент при воспалительных заболеваниях придатков матки [Текст] / Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Невоструев С.А. и др. // **Врач-аспирант**. – 2012. - № 1(50). – С. 26-33.
5. Логвинов С.В. Способ моделирования аутоиммунного оофорита : пат. 2439712 Рос. Федерация / Логвинов С.В., Тихоновская О.А., Невоструев С.А., Дмитриева М.Л.. – Заявл. 21.07.2010; опубл. 10.01.2012, Бюл. № 1. – 14 с.: ил.
6. Дмитриева М.Л. Ультраструктурные изменения фолликулов яичника при экспериментальном аутоиммунном оофорите [Текст] / Дмитриева М.Л., Тупицына Т.В. // «Интеллектуальный потенциал молодых ученых России и зарубежья». Материалы IV Международной научно-практической конференции. – М.: Издательство «Спутник +». – 2012. – С. 17-20.
7. Тупицына Т.В. Влияние глюкокортикоидной терапии на морфофункциональное состояние яичников в ранние сроки экспериментального аутоиммунного оофорита [Текст] / Тупицына Т.В., Дмитриева М.Л. // «Интеллектуальный потенциал молодых ученых России и зарубежья», Материалы IV Международной научно-практической конференции. – М.: Издательство «Спутник +». – 2012. – С. 17-20.
8. Дмитриева М.Л. Динамика морфологических изменений репродуктивного аппарата яичника при экспериментальном аутоиммунном оофорите [Текст] /

- Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Логвинов С.В. и др. // **Бюллетень сибирской медицины.** - № 1. – 2012. – С. 14-18.
9. Дмитриева М.Л. Изучение уровня ингибина В и антимюллеровского гормона при аутоиммунном оофорите в эксперимента [Текст] / Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Логвинов С.В. и др. // **Сибирский медицинский журнал.** - № 1. – 2012. – С. 127-129.
10. Дмитриева М.Л. Структурные особенности микроциркуляции при аутоиммунном оофорите в эксперименте [Текст] / Дмитриева М.Л., Тупицына Т.В., Логвинов С.В. // IV Всероссийская научная конференция с международным участием «Микроциркуляция в клинической практике». – Москва. – 2012. – С. 45.
11. Тупицына Т.В. Влияние глюкокортикоидов на кровеносные сосуды яичников в ранние стадии экспериментального аутоиммунного оофорита [Текст] / Тупицына Т.В., Тихоновская О.А., Дмитриева М.Л., Логвинов С.В. // IV Всероссийская научная конференция с международным участием «Микроциркуляция в клинической практике». – Москва. – 2012. – С. 57.
12. Тупицына Т.В. Действие глюкокортикоидов на генеративный аппарат яичников в ранние сроки экспериментального аутоиммунного оофорита [Текст] / Тупицына Т.В., Дмитриева М.Л., Логвинов С.В. // Сборник материалов XIX Российского национального конгресса "Человек и лекарство". – Москва. – 2012. – С. 584.
13. Тупицына Т.В. Структурные особенности генеративных элементов яичников при экспериментальном аутоиммунном оофорите и их коррекция с помощью глюкокортикоидов на ранних стадиях заболевания [Текст] / Тупицына Т.В., Дмитриева М.Л. // Сборник материалов XIX Российского национального конгресса "Человек и лекарство". – Москва. – 2012. – С. 584.
14. Дмитриева М.Л. Морфологические изменения яичников крыс при экспериментальном аутоиммунном оофорите [Текст] / Дмитриева М.Л., Логвинов С.В. // Материалы XI конгресса международной ассоциации морфологов. **Морфология.** – № 3. – 2012. – С. 53.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМН – anti-Mullerian hormone (антимюллеровский гормон)

АОА – антиовариальные антитела

ВЗОМТ - воспалительные заболевания органов малого таза

ИФА – иммуноферментный анализ

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХВЗОМТ – хронические воспалительные заболевания органов малого таза

ХВПМ – хроническое воспаление придатков матки