

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Куприянова Ирина Игоревна

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ
САЛЬПИНГЭКТОМИИ
(экспериментально-клиническое исследование)

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

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук,
профессор Логвинов С. В.;
доктор медицинских наук,
профессор Тихоновская О. А.

Томск 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Анатомические и функциональные взаимоотношения маточных труб и яичников, основы фолликулогенеза	10
1.2. Современное представление об овариальном резерве и его связь с морфологическим состоянием яичников	16
1.3. Влияние различных повреждающих факторов на гонады в эксперименте и клинике	20
1.4. Превентивная и активная профилактика вторичной недостаточности гонад	25
1.5. Клинико-эпидемиологические аспекты сальпингэктомии	27
1.6. Влияние оперативного лечения органов женской репродуктивной системы на морфофункциональное состояние яичников	30
1.7. Резюме	34
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1. Экспериментальная часть	36
2.1.1. Морфологические методы исследования	38
2.1.2. Лабораторные методы исследования	40
2.2. Клиническая часть	41
2.3. Статистический анализ	44
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	46
3.1. Общая характеристика подопытных животных	46
3.2.1. Морфологические изменения в яичниках крыс после удаления яйцеводов	48
3.2.2. Некоторые показатели морфоколичественного исследования яичников крыс после удаления яйцеводов	58

3.3. Результаты иммуногистохимического исследования яичников крыс после удаления яйцеводов	67
3.4. Содержание половых гормонов в сыворотке крови крыс после удаления яйцеводов	72
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ. КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	75
4.1. Клинико-лабораторная характеристика пациенток с бесплодием трубного генеза	75
4.2. Характеристика программ ВРТ пациенток с бесплодием трубного генеза	85
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	89
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	107
ВЫВОДЫ	109
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	110
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	111
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	112

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. В последние годы в клинической практике появились принципиально новые показания для сальпингэктомии [Попов А. А., 2015; Kontoravdis A. et al., 2006; Venturella R. et al., 2015], в связи с чем изучение морфологического состояния и функции яичников после данной операции является весьма актуальным.

Значительное число исследований подтверждают негативное влияние прямого и непрямого воздействия на яичники различных хирургических энергий [Кадесникова Ю. А. и соавт., 2010; Ускова М. А., 2010; Зулумян Т. Н., Хамошина М. Б., 2013]. Установлено, что непосредственное действие различных повреждающих факторов (электрокоагуляция, физическое воздействие) на яичник кратковременно вызывает усиление роста фолликулов, а в дальнейшем наблюдается усиление атретических процессов [Петрова М. С., 1999; Тихоновская О. А., 2000; Бухарина И. Ю., 2003; Вазиева Г. К., 2005].

Известно, что хирургические операции на матке и маточных трубах сопровождаются выключением яичниковой ветви маточной артерии из кровоснабжения яичника [Dietl J., Wischhusen J., 2014]. Гистерэктомия, перевязка и удаление яйцеводов приводят к снижению количества растущих фолликулов и усилению атрезии в яичниках экспериментальных животных [Özdamar S., 2005; Tapisiz O. L. et al., 2008; Ulug P., Oner G., 2014]. Результаты клинических исследований противоречивы, и зачастую исследователи приходят к противоположным выводам относительно влияния сальпингэктомии на овариальный резерв, функциональное состояние яичников и эффективность вспомогательных репродуктивных технологий [Almog B. et al., 2011; Orvieto R. et al., 2011; Venturella R. et al., 2015; Song T. et al., 2016; Sahin Ersoy G. et al., 2016].

Большое значение в процессах фолликулогенеза играет микроокружение фолликула, факторы ауто- и паракринной регуляции [Зенкина В. Г. и др., 2012; Eppig J. J. et al., 2002; Wigglesworth K. et al., 2013]. Установлена роль

антимюллерова гормона (АМГ) в физиологической регуляции роста и атрезии фолликула на ранних стадиях развития, однако экспрессия данного фактора при патологических состояниях изучена недостаточно [Jeppesen J. V. et al., 2013; Daneshian Z. et al., 2015; Nouri M. et al., 2016]. В клинической практике сывороточная концентрация АМГ является одним из наиболее значимых маркеров овариального резерва [Боярский К.Ю., 2009; Жорданидзе Д.О., 2011, Cunt C., 2011].

Удаление гидросальпинксов выполняется пациенткам перед проведением вспомогательных репродуктивных технологий [Zhang Y. et al., 2015]. F. Mol et al. (2015) считают сальпингэктомию методом выбора для оперативного лечения внематочной беременности. Комплексный анализ экспериментальных и клинических данных, оценка овариального резерва и эффективности вспомогательных репродуктивных технологий в отдаленный период после операции необходимы для объективной оценки влияния сальпингэктомии на репродуктивный потенциал яичников.

Степень разработанности проблемы. Ранее свой вклад в изучение проблемы внесли Р. McComb и L. Delbeke (1984), Р. Н. Yu et al. (2015), однако данные исследования были проведены на кроликах и приматах соответственно. При этом исследовалось функциональное состояние яичников, Р. McComb и L. Delbeke (1984) исследовали количество овуляций, а Р. Н. Yu et al. (2015) – сывороточные концентрации эстрадиола и тестостерона после удаления яйцеводов. Экспериментально изучение морфологии яичников после воздействия на них различными повреждающими факторами (электрокоагуляция, физическое воздействие) изучалось М.С. Петровой (1999), О.А. Тихоновской (2000), И.Ю. Бухариной (2003), Г.К. Вазиевой (2005), И.А. Петровым (2009). Были обнаружены кратковременное усиление роста фолликулов под действием повреждающего фактора с последующим усилением атретических процессов.

Единственное доступное в литературе экспериментальное исследование, включающее оценку морфологического состояния яичников после удаления яйцеводов у крыс, проведено P. Ulug, G. Oner в 2014 г. Данное исследование также включает оценку сывороточной концентрации АМГ, однако авторы не исследуют экспрессию АМГ в яичниках, что представляется весьма важным для разъяснения механизмов формирования овариальной недостаточности после удаления яйцеводов.

Клиническая оценка состояния яичников после СЭ отражена в работах A. Lass et al. (1998), T. A. Gelbaya et al. (2006), R. Orvieto et al. (2011), W. Xi et al. (2012), C. M. Ercan et al. (2013), A. D. Findley et al. (2013), A. G. A. Grynnerup, A. Lindhard, S. Sørensen (2013), M. Morelli et al. (2013), L. Ni et al. (2013), I. Uyar et al. (2013), X. Ye, Y. Yang, X.O. Sun (2015), O. Rustamov et al. (2016), G.Sahin Ersoy et al. (2016), T. Song et al. (2016), F. Qin, D. F. Du , X. L. Li (2016). Данные работы демонстрируют противоречивые выводы, не позволяющие прийти к единому мнению о влиянии сальпингэктомии на состояние яичников. Отсутствуют исследования, которые комплексно оценивают морфологические изменения в яичниках, показатели овариального резерва и репродуктивную функцию после удаления маточных труб.

Цель исследования - изучить морфофункциональное состояние яичников после сальпингэктомии в эксперименте и в клинике.

Задачи исследования:

1. Изучить характер, динамику и последовательность изменений структурно-функциональных элементов яичников экспериментальных животных после удаления яйцеводов.
2. Провести иммуногистохимическое исследование экспрессии антимюллера гормона в яичниках экспериментальных животных после удаления яйцеводов.
3. Серологически оценить овариальный резерв экспериментальных животных на основании определения концентрации ФСГ, тестостерона, антимюллера

гормона непосредственно после удаления яйцеводов и в отдаленном периоде после операции.

4. Провести ретроспективный анализ клинических, сывороточных и ультразвуковых показателей овариального резерва у женщин репродуктивного возраста после сальпингэктомии.

5. Определить эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий у женщин репродуктивного возраста после сальпингэктомии.

Научная новизна. Получены новые экспериментальные данные о динамике морфоколичественных изменений структурных элементов яичников: фолликулов на различных стадиях развития, желтых тел, атретических фолликулов после удаления яйцеводов. Проведен анализ экспериментальных и клинических данных о состоянии овариального резерва по результатам комплексной оценки морфофункционального состояния яичников и серологических показателей в краткосрочном и отдаленном периоде после сальпингэктомии. Впервые в эксперименте с помощью иммуногистохимической методики изучена экспрессия АМГ в яичниках экспериментальных животных после удаления яйцеводов и установлено снижение экспрессии АМГ фолликулоцитами первичных и вторичных фолликулов.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты расширяют фундаментальные знания о возможностях адаптации тканевых элементов яичника к действию повреждающих факторов, о функциональной связи яичника и маточной трубы. Полученные данные о влиянии оперативных вмешательств на маточных трубах на функцию яичников могут быть использованы для прогноза восстановления фертильности после операции на придатках, а также для персонализации программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток, перенесших удаление маточных труб.

Методология и методы исследования. В экспериментальной части работы проведено моделирование сальпингэктомии на крысах. Эксперимент выполнен на

кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии, на базе отдела нормальной физиологии и экспериментальной хирургии центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) СибГМУ. Для оценки состояния яичников использовались общегистологические, морфоколичественные, иммуногистохимический и лабораторные методы исследования. В клинической части работы проведено ретроспективное параллельное исследование «случай-контроль». Анализ результатов проводили на персональном компьютере с использованием программы IBM SPSS Statistics v.22.0 (US).

Положения, выносимые на защиту:

1. Удаление яйцеводов в эксперименте вызывает гемодинамические нарушения и пролиферацию соединительно-тканной стромы в яичниках, что сопровождается повреждением генеративного и эндокринного аппарата и формированием вторичной яичниковой недостаточности.
2. Сальпингэктомия у женщин молодого репродуктивного возраста приводит к снижению генеративной и эндокринной функции яичников, повышению сывороточной концентрации ФСГ, снижению количества антральных фолликулов в раннюю фолликулярную фазу менструального цикла.

Степень достоверности и апробация. Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений, современными методами исследования, которые соответствуют поставленным в работе целям и задачам. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подкреплены фактическими данными, наглядно представленными в приведенных таблицах и рисунках. Статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Материалы диссертации представлены на XIII конгрессе Международной ассоциации морфологов (Петрозаводск, 2016), IX Региональном научно-

образовательном форуме «Мать и дитя» (Сочи, 2016), на XIX Межрегиональная научно-практической конференции "Амбулаторно-поликлиническая помощь в акушерстве и гинекологии" (Томск, 2016).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 8 – в журналах, рекомендованных ВАК для опубликования основных результатов диссертаций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста, содержит 13 таблиц, 1 фотографию, 24 микрофотографии. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований (экспериментальной и клинической части), обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка, включающего 256 источников, из которых 32 на русском и 224 на английском языке.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Анатомические и функциональные взаимоотношения маточных труб и яичников, основы фолликулогенеза

Механизмы, лежащие в основе функционирования половой системы, интересуют исследователей на протяжении нескольких столетий. Несмотря на значительное количество накопленных данных и стремительное развитие технологий, некоторые вопросы до сих пор остаются открытыми.

Начиная с 70-х годов и до настоящего времени, активно исследуются механизмы инициации и дальнейшего роста фолликулов. Процесс созревания фолликулов от инициации до овуляции делится на 3 фазы: 1) гормон-независимый рост до стадии вторичного фолликула; 2) гормон-чувствительная фаза - рост антральных фолликулов до достижения диаметра 1-2 мм; 3) гормон-зависимая фаза - рост преобладающих фолликулов диаметром от 2 мм и селекция доминантного фолликула [Боярский К.Ю., 2009]. Большинство растущих фолликулов подвергаются атрезии на разных стадиях своего развития. На фолликулогенез и атрезию на различных этапах оказывают влияние микроокружение, гормоны и биологически активные вещества, синтезируемые как в яичнике, так и вне его. Формирование микроокружения фолликула происходит под влиянием кровеносной, лимфатической и нервной системы яичника.

Наиболее изученными факторами, влияющим на фолликулогенез являются гонадотропные гормоны, синтезирующиеся под воздействием пульсовой секреции гонадолиберина гипоталамуса. ФСГ и ЛГ регулируют преимущественно гормон-зависимую фазу роста и овуляцию [Christensen A. et al., 2012]. Под действием ФСГ ароматаза клеток гранулезы катализирует конверсию эстрогенов из андрогенов, продуцируемых текальной оболочкой [Савина В.А.,

2012]. При низком содержании эстрадиола в фолликулярной жидкости (ФЖ) фолликул в дальнейшем подвергается атрезии [Tripathy S. et al., 2016]. В клинической практике высокое содержание эстрадиола в ФЖ является прогностическим признаком получения яйцеклеток хорошего качества в цикле ВРТ [Carpintero N. L. et al., 2014]. Андрогены, синтезируемые текальной оболочкой из прегненолона, участвуют в регуляции роста фолликула на ранних стадиях [Yang M. Y., Fortune J. E., 2006; Sen A., Hammes S. R., 2010], однако в больших концентрациях вызывают подавление пролиферации фолликулярного эпителия и запускают процессы клеточной гибели [Chen M. J. et al., 2015]. Секреция субъединиц ФСГ, ЛГ и изоформ гонадотропин-релизинг гормона (ГнРГ) обнаружена также в эпифизе, молочных железах, эндометрии и яичниках млекопитающих, в том числе, человека [Garde S. V. et al., 1993; Ramakrishnappa N. et al., 2005; Metallinou C. et al., 2007; Schirman-Hildesheim T. D. et al., 2008]. Описана экспрессия ГнРГ и рецепторов к нему тканями яйцеводов коров и маточных труб у человека [Casañ E. M. et al., 2000; Singh R. et al., 2008]. Предполагается, что ГнРГ маточных труб участвует в процессе оплодотворения, раннем эмбриональном развитии и имплантации [Casañ E. M. et al., 2000].

Ингибин В вырабатывается клетками гранулезы преобладающих фолликулов и является эндо- и паракринным регулятором фолликулогенеза. С возрастанием концентрации, он оказывает ингибирующее влияние на секрецию ФСГ по механизму отрицательной обратной связи [Hazout A. et al., 2004; Yding Andersen C., Rosendahl M., Byskov A. G., 2008]. Ингибин В стимулирует продукцию андрогенов текальными клетками, что приводит к повышению экспрессии рецепторов к ФСГ и ЛГ в фолликулярном эпителии, и более высокой вероятности селекции данного фолликула в дальнейшем [Andersen C. Y., 2016].

В последнее время активно изучается роль антимюллерового гормона (АМГ) в процессах фолликулогенеза. АМГ – гликопротеид из суперсемейства трансформирующих факторов роста- β (ТФР- β). Синтез этого вещества

обнаруживается в клетках фолликулярного эпителия, растущих преантральных и антральных фолликулов диаметром до 6 мм [Fejereisen E. et al., 2006]. W.M. Vaarends et al. (1995), L. Pellatt et al. (2006) показали, что рецепторы к АМГ выявляются также в клетках гранулезы и теки преантральных и небольших антральных фолликулов. Предполагается, что АМГ подавляет процессы инициации покоящихся фолликулов путем воздействия на прегранулезные клетки. Так, у мышей с выключенным синтезом АМГ отмечается большее количество фолликулов, вступающих в рост в каждом цикле, и более раннее истощение фолликулярного пула по сравнению с таковыми у мышей с нормальным синтезом гормона [Durlinger A. L. L. et al., 1999]. У женщин с полиморфизмом гена рецепторов АМГ 2 типа (AMHRII) отмечается раннее наступление менопаузы, что вероятно связано с более быстрым истощением пула примордиальных фолликулов [Kevenaar M. E. et al., 2007]. Также, в отсутствие АМГ увеличивается скорость инициации роста фолликулов, а фолликулярные клетки демонстрируют большую чувствительность к ФСГ, т.е. АМГ оказывает определенное регулирующее влияние и на гормон-зависимую стадию роста фолликулов [Durlinger A. L. L. et al., 2002]. По данным W.M. Vaarends et al. (1995) экспрессия АМГ и его рецепторов ингибируется при повышении концентрации ФСГ.

Роль нервной системы в процессах фолликулогенеза также подтверждается экспериментальными исследованиями. Вегетативные нервы достигают яичника в составе верхнего яичникового нерва, который залегает в подвешивающей связке яичника и в составе яичникового сплетения, окружающего яичниковую артерию. Симпатическое эфферентное влияние приводит к вазоконстрикции и ингибции синтеза эстрадиола [Uchida S., Kagitani F., 2015]. После перерезки яичникового сплетения и верхнего яичникового нерва отмечается снижение количества крупных антральных фолликулов и снижение сывороточных концентраций эстрадиола, ЛГ и прогестерона. Снижение концентрации эстрадиола приводит к

отсутствию пика ЛГ, ановуляции, и, как следствие, к низкому уровню прогестерона во второй фазе цикла [Jana V. et al., 2003].

В фолликулогенезе большую роль играет сосудистая система яичника, которая анатомически и функционально связана с сосудами маточных труб, а соотношение их характеризуется высокой индивидуальной вариабельностью. Яичниковая артерия у человека отходит от аорты, идет вдоль подвешивающей связки яичника и его переднего края, где анастомозирует с ветвью маточной артерии. Анастомоз между этими сосудами в большинстве случаев образуется в брыжейке маточной трубы. Доказано, что архитектоника сосудов маточной трубы и яичника отличается высокой индивидуальной вариабельностью. Выявляются три варианта кровоснабжения: в большинстве случаев оба сосуда в равной степени снабжают яичник, реже встречается преимущественное снабжение гонад за счет яичниковой или маточной артерии. В единичных случаях яичник кровоснабжается исключительно за счет яичниковой артерии [Калашникова С. Н., Жарова Н. В., 2010]. Аналогичная частота вариантов кровоснабжения встречается и у крыс [Hebel R., Stromberg M. W., 1986].

Место анастомоза двух ветвей также индивидуально: при наиболее часто встречающемся двойном типе анастомоза он может находиться в брыжейке яичника, брыжейке маточной трубы, в связке поддерживающей яичник, у трубного угла матки. От этого соединения отходят примерно 10 ветвей, которые входят в ворота и мозговое вещество яичника. По мере их продвижения в мозговом веществе, они начинают заметно извиваться и ветвиться. В месте соединения мозгового и коркового вещества медуллярные артерии и артериолы формируют сплетения, из которых выходят меньшие по диаметру прямые артериолы коркового вещества, распространяющиеся радиально и перпендикулярно поверхности яичника. Кортикальные артериолы ветвятся и анастомозируют несколько раз, образуя систему взаимосвязанных сосудистых арок. Арки дают начало капиллярам, которые образуют плотную сеть в текальном

слое фолликулов. Вены сопутствуют ходу артерий и формируют в области ворот густое сплетение, впадающее в яичниковую вену, которая пересекает мезоовариум и направляется вдоль подвешивающей связки яичника [Clement P. B., 1987].

Лимфокапилляры в яичнике мышей обнаруживаются в строме коры в окружении растущих фолликулов, в мозговом веществе в непосредственной близости к кровеносным сосудам, однако не встречаются в гранулезе и текальной оболочке фолликулов [Brown H. M., Robker R. L., Russell D. L., 2010; Svingen T. et al., 2012]. У приматов и человека описана текальная сеть лимфокапилляров [Clement P. B., 1987, Xu F., Stouffer R. L., 2009]. В желтом теле обнаруживается густая сеть лимфатических сосудов. Проходя через строму яичника независимо от кровотока, лимфатические сосуды, впадают в более крупные стволы и собираются в сплетение в области ворот. От 4 до 8 сосудов проходят в брыжейке яичника, формируя супраовариальное сплетение [Clement P. B., 1987]. Лимфатическая система ответственна за поддержание тканевого гомеостаза ткани яичника, обеспечивая реабсорбцию тканевой жидкости, в том числе, фолликулярной жидкости овулировавшего фолликула обратно в кровоток и постоянную перфузию ткани [Alitalo K., 2011]. Предполагается роль лимфатических сосудов в гормональной циркуляции связанной с процессом овуляции [Abe H. et al., 2014].

Уникальность сосудистой сети яичника состоит в ее высокой пластичности и способности к ремоделированию от цикла к циклу [Brown H. M., Robker R. L., Russell D. L., 2010]. G. Herrmann и K. Spanelborowski (1996) в эксперименте показали снижение количества примордиальных и первичных фолликулов в зонах с низким кровотоком яичников коров. Кровеносные сосуды доставляют гонадотропины, кислород, липиды и стероиды, необходимые для роста соматических структур и ооцита. Фолликулы от стадии примордиальных до вторичных (преантральных) не имеют собственной сосудистой сети, получая

кислород и питательные вещества диффузно от стромальных сосудов [Fraser H. M., Duncan W. C., 2005; Fraser H. M., 2006]. К моменту формирования полости фолликула сосуды образуют 2 концентрических сплетения в текальном слое, играя ключевую роль в процессах роста и развития [Shimizu T. et al., 2012]. С ростом фолликула сосуды увеличиваются в размере и количестве, однако никогда не прорастают базальную мембрану. Таким образом, фолликулярный эпителий является аваскулярным на любом этапе развития [Fraser H. M., 2006]. Также роль сосудистого русла в фолликулярном росте косвенно подтверждает факт более богатой васкуляризации доминантного фолликула в сравнении с недоминантными [Zelezni I. A. J., Schuler H. M., Reichert J. R. L., 1991]. Формирование плотной сосудистой сети с повышением проницаемости сосудов – один из факторов отбора доминантного фолликула [Barboni B. et al., 2000].

Гипоксия, нарушение работы митохондрий – факторы, приводящие к снижению качества ооцитов: нарушению образования веретена деления в мейозе, образованию мультинуклеарных бластомеров при дроблении, повышению риска развития анеуплоидии у эмбриона [Van Blerkom J., 2000; Agarwal A., Saleh R. A., Bedaiwy M. A., 2003]. Бедная васкуляризация фолликула – один из факторов ранней атрезии [Greenwald G. S., 1989]. В ответ на гипоксию отмечается повышение содержания в ФЖ сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), как компенсаторная реакция [Monteleone P. et al., 2008]. Ряд исследований подтверждает сопряженность высокого содержания VEGF в ФЖ и низкой частотой оплодотворения и плохой морфологией эмбрионов при ВРТ [Barroso G. et al., 1999, Malamitsi-Puchner A. et al., 2001].

Эти данные иллюстрируют большое значение сосудистого фактора в развитии полноценного ово-соматического гистиона.

1.2. Современное представление об овариальном резерве и его связь с морфологическим состоянием яичников

Еще в середине XX в. было установлено, что оогенез происходит исключительно внутриутробно и прекращается к моменту рождения. В ходе эмбриогенеза в яичниках плода закладывается около 6-7 миллионов ооцитов, большинство из которых подвергается дегенерации на стадии оогонии в митозе, на стадии ооцита в пахитене профазы I мейоза или в диплотене профазы I. Оогонии не обнаруживаются в яичниках по разным данным к 4 или к 7 месяцу внутриутробного развития. К моменту рождения в яичниках обнаруживается 1-2 миллиона ооцитов, к моменту полового созревания 300-600 тыс., к 37 годам этот показатель составляет 25 тыс., и 1 тыс. после 51 года [Block E., 1952; Baker T. G., 1963]. Количество оставшихся фолликулов определяется термином «фолликулярный запас», который не отражает их функционального состояния [Назаренко Т.А., 2004]. Для характеристики количественных и качественных показателей фолликулов яичника используется понятие овариальный резерв (ОР). К.Ю. Боярский, С. Н. Гайдуков, А. С. Чинчаладзе (2009) определяют ОР, как резерв фолликулов, содержащих здоровый ооцит, способных к полноценному развитию и адекватному ответу на овариальную стимуляцию.

Было показано, что после 38 лет скорость истощения пула фолликулов увеличивается - 60% фолликулов от стадии примордиальных до вторичных подвергаются атрезии [Faddy M. J., Gosden R. G., 1995]. Процент наступления беременности при ВРТ значительно различается в зависимости от возраста: 52,76% у женщин моложе 31 года, 44,33% у женщин в возрасте от 31 до 35 лет, 36,15% - в возрасте 36-40 лет и 13,33% у женщин старше 41 года [Ou J. et al., 2015]. Однако, несмотря на то, что средний возраст менопаузы составляет 50 лет, средний возраст последних родов соответствует 41-43 годам [Muttukrishna S. et al., 2000]. Кроме физиологических факторов, существует множество патологических состояний, оказывающих влияние на ОР. Таким образом, не

только возраст является фактором, определяющим репродуктивный потенциал яичников.

Изучение половых гормонов в сыворотке крови, как показателей функции яичников, началось с 60-х годов прошлого века. Базальные концентрации гормонов, измеренные на 2-й – 3-й день менструального цикла, позволяют оценивать состояние фолликулярного аппарата в гормонзависимую стадию развития.

Некоторые показатели ОР в настоящий момент не используются в клинической практике ввиду обнаружения новых, более точных и удобных в применении маркеров. Базальная концентрация эстрадиола в сыворотке крови отражает функциональное состояние яичников, но не является надежным средством для оценки резерва фолликулов яичника [Licciardi F. L., Liu H. C., Rosenwaks Z., 1995; Smotrich D. B. et al., 1995; Fiçiciođlu C. et al., 2006]. Концентрация сывороточного тестостерона снижается с возрастом, и прямо пропорциональна количеству полученных ооцитов в цикле ВРТ. Также отмечена его корреляция с отношением ФСГ/ЛГ. Однако тестостерон не может быть использован для прогноза исхода беременности [Xiao S. et al., 2016].

Одним из распространенных в практике показателей, позволяющих оценить ОР, является базальная концентрация ФСГ, поскольку он влияет на формирование когорты растущих фолликулов и рекрутирование доминантного преовуляторного. По механизму отрицательной обратной связи эстрогены и ингибин В, вырабатываемые гранулезными клетками растущих фолликулов, подавляют секрецию ФСГ. Соответственно, снижение количества растущих фолликулов, независимо от причины, приводит к повышению уровня данного гормона. Базальная концентрация ФСГ более 10 ЕД/л является предиктором плохого ответа яичника на стимуляцию [Мишиева Н. Г. и др., 2008; La Marca A. et al., 2016]. Использование этого маркера признается высокоэффективным большинством клиницистов [Мишиева Н. Г. и др., 2008]. Прогностическая ценность

распространяется не только на конкретный цикл – максимальная базальная концентрация ФСГ, полученная при исследовании в нескольких циклах, позволяет прогнозировать количество полученных ооцитов с большей точностью, чем однократное измерение ФСГ [Gingold J. A. et al., 2015]. Вместе с тем, повышение сывороточной концентрации ФСГ отмечается после событий, снижающих ОР, и позволяет только констатировать факт уже произошедшей потери репродуктивного потенциала, что в некоторой степени снижает его ценность в клинической практике [Feyereisen E. et al., 2006].

Измерение базальной концентрации ингибина В, продуцируемого гранулезой растущих фолликулов, позволяет косвенно оценивать объем пула растущих фолликулов. Концентрация ингибина В на 2-е – 3-и сутки цикла обратно пропорциональна концентрации ФСГ [Tinkanen H. et al., 2001], и циклически изменяется, достигая максимального значения к середине фолликулярной фазы, затем постепенно снижаясь до клинически незначимых концентраций [Feyereisen E. et al., 2006]. Значение ингибина В более 45 пг/мл является предиктором хорошего ответа яичников на стимуляцию и удовлетворительного качества полученных яйцеклеток [Broekmans F. J., 2009]. Отмечается четкая корреляция между концентрацией ингибина В и количеством антральных фолликулов, определяемых при УЗИ [Van Blerkom J., 2001]. Вместе с тем, ряд исследователей не подтверждает прогностическую ценность данного показателя, как маркера ОР [Corson S. L. et al., 1999; Hall J. E., Weltand C. K., Cramer D. W., 1999; Scheffer J. B. et al., 2007].

Концентрации ФСГ и ингибина В зависят от количества фолликулов, находящихся в гормон-зависимой стадии роста в конкретный момент, варьируют в течение цикла, и дают только косвенное представление об общем количестве полноценных фолликулов яичника.

Значение АМГ, как маркера ОР, представляется наиболее перспективным: АМГ продуцируется малыми растущими фолликулами, рост которых ФСГ-

независим, а значит, его концентрация не подвержена циклическим колебаниям, в отличие от стероидных и гонадотропных гормонов, что делает его удобным для оценки резерва яичника [Weenen C. et al., 2004]. Однако отдельные исследования показывают наличие вариабельности концентрации АМГ в сыворотке крови в течение цикла [Overbeek A. et al., 2012; Randolph J. F. et al., 2013]. Так, J. F. Randolph et al. (2013) отмечают 4х-фазный паттерн секреции у женщин при АМГ выше 1 нг/мл [Randolph J. F. et al., 2013]. АМГ признается наиболее надежным, точным и удобным показателем ОР [Van Rooij I. A. J. et al., 2003; Hazout A. et al., 2004; Fanchin R. et al., 2005; Van Rooij I. A. J. et al., 2005; Hehenkamp W. J. K. et al., 2007; Patrelli T. S. et al., 2012]. Концентрация гормона менее 0,5-1,0 нг/мл соответствует снижению ОР и является предиктором плохого ответа яичника на овариальную стимуляцию [Мишиева Н. Г. и др., 2008; La Marca A. et al., 2010].

УЗ-маркеры ОР удобны для применения в клинической практике, являются неинвазивными и позволяют с большой точностью оценить ОР. По данным С. Н. Syrop et al. (1999), снижение объема яичника ассоциировано с меньшим количеством получаемых ооцитов и уменьшением частоты наступления беременности. Отмечается значительная корреляция между объемом яичника, концентрацией ФСГ и возрастом женщины [Bowen S. et al., 2007].

Трансвагинальная сонография позволяет выявить все антральные фолликулы диаметром от 2 до 10 мм [Broekmans F. J. M. et al., 2010]. J.L. Frattarelli et al. (2000) установили, что при фолликулярном антральном счете (ФАС) менее 10, либо диаметре лидирующей фолликулы менее 20 мм в спонтанном цикле повышается риск неудачи в программах ВРТ. Отмечается высокая информативность ультразвуковых маркеров, как предикторов количества получаемых ооцитов [Chang M. Y. et al., 1998; Hsu A. et al., 2011; Himabindu Y. et al., 2013], ответа яичника на стимуляцию гонадотропинами [Tomas C., Nuojuu-Huttunen S., Martikainen H., 1997; Frattarelli J. L. et al., 2000]. Взаимосвязь между ФАС и качеством получаемых эмбрионов не обнаружена [Chang M. Y. et al., 1998,

Jayaprakasan K. et al., 2010; Himabindu Y. et al., 2013]. По данным L. F. Bancsi et al. (2002), ФАС и объем яичников являются лучшими предикторами ответа яичников на стимуляцию, чем хронологический возраст и базальный уровень ФСГ. R. Zhu et al. (2015) показали, что ФАС, объем яичника и сывороточный уровень АМГ сильно коррелируют с продолжительностью менструального цикла, а значит позволяют прогнозировать длительность сохранения репродуктивного потенциала яичника. Традиционно измерение ФАС проводится на 2-3 дни цикла [Chang M. Y. et al., 1998], однако S. Deb et al. (2013) считают, что циклические колебания этого показателя незначительны, что позволяет измерять его независимо от дня цикла, а это повышает удобство и ценность данного маркера ОР. Вместе с тем, в определенной мере, УЗИ является субъективной методикой, потому что результаты исследования в большой степени зависят от специалиста, выполняющего исследование, и изолированное использование этого критерия в оценке ОР может быть сопряжено со снижением информативности [Muttukrishna S. et al., 2004].

Для определения овариального резерва в комплексе оцениваются следующие показатели: возраст женщины, базальные концентрации ФСГ, ингибина В и АМГ в сыворотке крови, ФАС и объем яичников, определяемые при УЗИ на 2-3 день менструального цикла. Наиболее ценными критериями признаются число антральных фолликулов и сывороточная концентрация АМГ [Hendriks D. J. et al., 2005; Lukaszuk K. et al., 2013; Polyzos N. P. et al., 2013; Piodromiti S. et al., 2014; Christianson M. S. et al., 2015; La Marca A. et al., 20146].

1.3. Влияние различных повреждающих факторов на гонады в эксперименте и клинике

Реакция яичников на прямое действие различных повреждающих факторов изучена довольно подробно. Повреждающее действие операций на яичниках связано как с непосредственным разрушением тканей, так и с последующим

нарушением гемодинамики, ишемией тканей, развитием воспалительных изменений.

Выполнение цистэктомии подразумевает сохранение ткани яичника, с удалением только стенок кисты. Тем не менее, визуальное разделение стенки и здоровой ткани яичника иногда представляет трудность, особенно при выраженном фиброзе, что может приводить к удалению здоровой ткани яичника, содержащей значительное количество примордиальных фолликулов [Кавтеладзе Е. В., 2014; Donnez J. et al., 1996]. Объем повреждений увеличивается при выполнении цистэктомии, когда патологический процесс локализован в области ворот яичника, что обусловлено повреждением сосудов яичника и последующей ишемией [Кавтеладзе Е.В., 2014]. Также свой негативный вклад вносят развивающееся послеоперационное воспаление и предшествующее операции состояние гонад, приведшее к развитию патологии. После лапароскопической цистэктомии отмечается снижение концентраций АМГ, ингибина В, подъем ФСГ, в сравнении с контрольной группой, что позволяет относить таких пациенток в группу риска по развитию преждевременного истощения яичников. После резекции яичников, кроме вышеперечисленных маркеров, ухудшаются также УЗ-показатели ОР – наблюдается снижение ФАС и объема яичников [Кадесникова Ю. А. и др., 2008], снижение количества и качества ооцитов, полученных в программах стимуляции суперовуляции при ВРТ [Фаннуш Р., Бабенко О. М., 2013]. Энуклеация эндометриомы приводит к уменьшению объема яичника и снижению ФАС [Кавтеладзе Е.В., 2014], негативно сказывается на количестве полученных ооцитов в циклах ВРТ [Но Н. У. et al., 2002], при том, что само наличие эндометриоза яичника, не подвергнувшегося хирургическому лечению, существенно не влияет на исход ВРТ [Williams С. М. et al., 1998; Suzuki Т. et al., 2005]. Максимальное снижение ОР наблюдается при энуклеации кист диаметром более 7 см, и при использовании дополнительного гемостаза с помощью хирургических энергий [Кавтеладзе Е. В.,

2014]. Отдельные исследования не подтверждают ухудшения функции яичников после цистэктомии: S. Alborzi et al. (2007) не обнаружили разницы между ответом на овариальную стимуляцию здорового и оперированного яичника.

Хирургические энергии (моно- и биполярная коагуляция) широко используются в гинекологической практике. С. В. Логвинов и соавт. (2003) показали, что воздействие электрохирургической энергией на яичники приводит к образованию очагово-некротических изменений в местах коагуляции, окруженных зонами перифокального асептического воспаления и сопровождающихся выраженными гемодинамическими нарушениями. В ранние сроки после электрокоагуляции описано кратковременное стимулирующее воздействие на яичники, проявляющееся усилением роста фолликулов [Бухарина И. Ю. и др., 2003; Петров И. А. и др., 2008], а также гиперэстрогемией, гиперандрогемией, снижением концентрации ингибина В [Петров И. А. и др., 2008]. В дальнейшем наблюдаются усиленные атретические процессы, истощение компенсаторных возможностей яичника, замедление процессов роста и регенерации, значительное снижение количества растущих фолликулов [Окороков А. О. и др., 2010]. В зоне перифокального воспаления описаны гомогенизация ядер ооцитов и гидропические изменения их цитоплазмы. В ядрах некоторых ооцитов встречаются картины деления – инициация второго деления мейоза. В фолликулярном эпителии наблюдаются явления дисконфлексии и рексиса ядер. Примордиальные фолликулы не подвергаются дегенеративным изменениям, в отличие от окружающей их стромы. Через 15 дней в поврежденных участках активируются процессы пролиферации соединительной ткани [Логвинов С.В. и др., 2003]. Восстановление дефекта ткани проходит посредством рубцевания. Через месяц в зоне коагуляции образуется соединительнотканый рубец, отмечается большое количество атретических тел, растущие фолликулы в очаге поражения отсутствуют [Белоус С.В. Мясникова А. Д., Лазарева Г. А., 2007].

Наложение швов на яичники крыс приводит к развитию асептического воспаления и негативно влияет на фолликулярный аппарат. Признаки выраженного воспалительного процесса сохраняются до 30 дней после операции. В ранние сроки эксперимента (5 сутки) отмечено кратковременное увеличение количества растущих фолликулов, связанное вероятно с включением компенсаторных механизмов яичника. Во все последующие сроки отмечается снижение численности генеративных элементов и усиление процессов атрезии. Фолликулы всех стадий роста имеют вышеописанные характерные признаки дегенерации, которые отмечаются до 120 дней после наложения швов. Описаны дегенеративные изменения ооцитов в виде гомогенизации, повышения эозинофилии их цитоплазмы, неровности и деформации контуров клеток, признаков кариолизиса. На 75 сутки в строме яичника наблюдается выраженная пролиферация коллагеновых волокон [Вазиева Г. К., 2004].

Снижение показателей ОР описывается после любых оперативных вмешательств на яичниках [Овлащенко Е.И. и др., 2013; Hayasaka S. et al., 2010; Saito N. et al., 2014; Asgari Z. et al., 2015], однако у пациенток после электрокоагуляции оно оказывается более выраженным, вероятно, в связи с большей площадью повреждения здоровой яичниковой ткани, вследствие распространения тепловой энергии. После применения электрокоагуляции чаще встречаются нарушения менструального цикла, отмечаются более низкие концентрации АМГ, более высокие концентрации ФСГ, снижение числа антральных фолликулов в сравнении с таковыми у пациенток с ушиванием дефектов ткани [Fedele L. et al., 2003; Asgari Z. et al., 2015].

Ишемия ткани яичника возникает при нарушении его кровоснабжения вследствие перекрута ножки опухоли, тромбоза или ятрогенной эмболизации яичниковых артерий [Ryu R. K. et al., 2003], пересечения сосудов при операциях на матке и придатках. Известно, что в ответ на ишемию происходит разрастание соединительной ткани в органах [Warne G. L. et al., 1973; Motta P. M., Heyn R.,

Макабе S., 2002]. Таким образом, оценка степени фиброза позволяет косвенно определить выраженность ишемии, вызванной той или иной причиной. Острая ишемия приводит к быстрому развитию патоморфологических изменений – выраженные в тяжелой степени интерстициальный отек, явления застоя в сосудистом русле, кровоизлияния и лейкоцитарная инфильтрации обнаруживаются уже через 2 часа после начала ишемии [Inges M. et al., 2011; Eser A. et al., 2015].

При экспериментальном моделировании хронической ишемии с неполным перекрытием просвета сосудов у крыс через 60 дней в ткани яичника наблюдается значимое уменьшения численности примордиальных и растущих фолликулов, желтых тел. В сохранившихся фолликулах наблюдаются признаки дегенерации. Лютеоциты желтых тел содержат включения гемосидерина, встречаются единичные гемосидерофаги. В строме наблюдается умеренный отек, явления умеренного стаза и единичные кровоизлияния. В мозговой и корковой ткани наблюдается пролиферация соединительной ткани. К 90-м суткам ишемические изменения прогрессируют, численность генеративных элементов снижается в еще большей степени. При полном перекрытии просвета сосудов к 90-м суткам ткань яичника замещается васкуляризованной соединительной тканью. Иногда обнаруживаются желтые тела с включениями гемосидерина, атретические и кальцинированные фолликулы и очаги некроза [Murakami E. et al., 2014].

Таким образом, любое воздействие на яичник приводит к развитию в нем морфологических перестроек генеративных и соматических элементов, сопровождающихся снижением функции. Тем не менее, можно выделить факторы с более и менее выраженным негативным воздействием на яичник, чем должны руководствоваться практические врачи при выборе тактики лечения.

1.4. Превентивная и активная профилактика вторичной недостаточности гонад

Важную роль в механизмах повреждения тканей играют свободные радикалы, являющиеся продуктом перекисного окисления липидов, запускаемого медиаторами воспаления в условиях ишемии [Perrelli M. G., Pagliaro P., Penna C., 2011; Ozkisacik S. et al., 2014]. В связи с этим вещества с антиоксидантной активностью представляются эффективным средством защиты ткани от ишемических повреждений. Целый ряд работ посвящен эффекту антиоксидантов на реперфузионные повреждения яичника. Большинство авторов подтверждает снижение уровня в сыворотке крови биохимических маркеров оксидативного стресса под влиянием антиоксидантов [Dokuycu R. et al., 2014; Gencer M. et al., 2014]. Описано протективное влияние препарата асковертина на фолликулярный аппарат и эндокринную функцию яичников после электрокоагуляции [Бухарина И. Ю. и др., 2003]. В состав асковертина входят биофлаваноид дигидрокверцетин и аскорбиновая кислота. Препарат улучшает реологические свойства крови, приводя к снижению выраженности и длительности гемодинамических нарушений, уменьшению площади очага перифокального асептического воспаления. Снижение активности перекисного окисления липидов приводит к снижению процессов атрезии, в связи с чем в яичниках наблюдается большее содержание генеративных элементов, чем в яичниках крыс, не получавших лечение.

М. Vakacak et al. (2015) с целью уменьшения эффектов ишемии в ткани яичника предложили использовать препарат обогащенной тромбоцитами плазмы. Протективный эффект тромбоцит-обогащенной плазмы описан также и на других тканях [Tunçkiran A. et al., 2005; Ruixing Y. et al., 2007; Bir S. C. et al., 2009]. Ростовые факторы тромбоцитов стимулируют пролиферацию, дифференцировку, хемотаксис и ангиогенез, уменьшая выраженность отека, лейкоцитарной инфильтрации и гемодинамических изменений в ткани яичника, подвергнувшегося

ишемии, в сравнении с таковыми у крыс без введения плазмы [Вакасак М. et al., 2015].

Ю. А. Кадесниковой и соавт. (2010) было предложено использования препарата индол-3-карбол для нормализации морфофункционального состояния яичников после цистэктомии. Индол-3-карбинол имеет антиэстрогенное, противовоспалительное, апоптоз-индуцирующее действие. У пациенток после цистэктомии, принимавших данный препарат, отмечается снижение частоты рецидивов кист яичника, нарушений менструального цикла, а также более высокая частота наступления беременности в сравнении с таковыми у пациенток, принимавших комбинированные оральные контрацептивы [Кадесникова Ю. А. и др., 2008].

Большая роль в защите тканей яичников от действия повреждающих факторов играют физические методы воздействия. Представляет интерес применение ультразвука в послеоперационном периоде. Менее выраженные воспалительный процесс и деструктивные нарушения фолликулярного эпителия растущих фолликулов Г. К. Вазиева и соавт. (2004) обнаружили у крыс с наложенными на придатки швами после проведения курса УЗ в сравнении с таковыми у крыс без лечения. А также было выявлено снижение выраженности воспалительных изменений, гемодинамических нарушений, атретических процессов фолликулярного аппарата после курса ультрафонофореза экстракта полярных липидов иловой сульфидной грязи в сравнении с результатами группы, не получавшей послеоперационного лечения [Вазиева Г. К., 2004].

О. А. Тихоновская и соавт. (2000) показали эффективность препарата рапы озера Карачи в лечении воспалительных заболеваний яичника. В эксперименте на крысах электрофорез с использованием грязевого препарата рапы способствует снижению процессов экссудации, лейкоцитарной инфильтрации и выраженности гемодинамических нарушений в условиях острого воспаления

[Тихоновская О. А., Логвинов С. В., 1998; Тихоновская О. А., Евтушенко И. Д., Логвинов С. В., 2000].

Таким образом, протективный эффект различных медикаментозных и физических воздействий на яичники реализуется посредством купирования воспалительных и гемодинамических нарушений, предотвращая развитие ишемии тканей, их патологического ремоделирования и усиления атретических процессов в генеративном компоненте яичника.

1. 5. Клинико-эпидемиологические аспекты сальпингэктомии

До конца XX века сальпингэктомии (СЭ) отводилась роль дополнения к радикальным и нерадикальным гинекологическим операциям, либо ургентной меры помощи при жизнеугрожающих состояниях, в частности, при прервавшейся внематочной беременности [Venturella R. et al., 2015].

В XXI веке появились принципиально новые показания для удаления маточных труб и понятие “профилактическая СЭ”. Было установлено, что наличие гидросальпинкса ухудшает прогноз ВРТ, снижая частоту имплантации и наступления беременности [Strandell A. et al., 2001; Kontoravdis A. et al., 2006] и способствует увеличению риска спонтанного аборта [Camus E. et al., 1999]. Данное явление объясняется эмбриотоксическим действием воспалительного экссудата маточных труб [Barmat L. I. et al., 1999]. Результаты мета-анализа исследований, посвященных профилактической СЭ перед ВРТ, свидетельствуют, что СЭ, как и проксимальная окклюзия маточных труб у пациенток с гидросальпингсом, не ухудшают прогноз беременности и ответ яичников на стимуляцию [Zhang Y. et al., 2015]. Мета-анализ N. P. Johnson et al. в 2002 г. показал, что предшествующая ВРТ СЭ увеличивает шанс наступления беременности, ее неосложненного течения и частоту живорождений. Однако СЭ сама по себе является фактором риска снижения ОР, и ряд исследований, посвященных профилактической СЭ перед ВРТ, подтверждает этот факт.

А.В. Кузьмин и соавт. (2013) при сравнении исходов ВРТ у пациенток с гидросальпингсом обнаружили худшие показатели у пациенток после СЭ, средние по значению показатели у пациенток без операции и лучшие - у пациенток после функциональной хирургии маточных труб (лапароскопическая сальпингостомия, трансцервикальная фаллопоскопическая дилатация маточных труб).

Изменились взгляды и на органосохраняющие операции по поводу внематочной беременности. R. Venturella et al. (2015) показали, что на фертильность после внематочной беременности оказывают влияние комплекс факторов, среди которых наиболее важным оказывается предшествующий анамнез, в то время как выбранный метод лечения играет несущественную роль. При выполнении келифоэктомии риск повторного возникновения внематочной беременности возрастает [Clausen I., 1996], кроме того, создается вероятность ранних и поздних осложнений, обусловленных патологией трофобласта - персистенцией хориона, различных форм трофобластической болезни [Dubuisson J. B. et al., 1996; Dwarakanath L. S. et al., 1996; Mol F. et al., 2014]. Прогноз наступления спонтанной маточной беременности одинаков для пациенток после радикальных и органосохраняющих операций по поводу внематочной беременности [Clausen I., 1996; Yao M., Tulandi T., 1997; Mol F. et al., 2014]. Складывается впечатление, что на современном этапе развития методы пластической хирургии маточных труб вновь уступают место радикальным операциям.

Новым шагом в истории гинекологии стало профилактическое удаление маточных труб у пациенток с повышенным риском развития рака яичников. Традиционно считалось, что источником развития рака яичников является покровный герминативный эпителий. В результате многочисленных исследований в первом десятилетии XXI века появилась теория о том, что эпителиальные опухоли яичников имеют происхождение из эпителия

фимбриального отдела маточной трубы [Kurman R. J., Shih I. M., 2010]. Препрекурсоры развития высокодифференцированной серозной карциномы у женщин с мутацией гена BRCA1/2 при профилактической сальпингоовариэктомии обнаруживались не в яичниках, а в фимбриальном отделе маточной трубы. Позднее эти данные подтвердились и при исследовании женщин без риска развития семейного рака [Kurman R. J., Shih I. M., 2011]. Следствием этого открытия стало предложение заменить профилактическую сальпингоовариэктомию у женщин с повышенным риском рака яичников на профилактическую СЭ [Kwon J. S. et al., 2013; Venturella R., Morelli M., Zullo F., 2015]. Преимущества данной операции очевидны – она позволяет снизить риск возникновения рака яичника без развития тяжелых последствий хирургической менопаузы. Отдельные исследования подтверждают безопасность профилактической СЭ для ОР [Morelli M. et al., 2013].

В гинекологической практике СЭ стала более часто выполняться с целью хирургической стерилизации. Классически операция стерилизации у женщин выполняется путем перевязки, коагуляции или частичной резекции маточных труб в области перешейка. Сохранение маточных труб с точки зрения возможности восстановления фертильности не имеет смысла, т.к. после этих воздействий часто наблюдаются необратимые гистологические перестройки тканей, которые делают невозможным восстановление проходимости в случае желаяния пациентки. Для женщин, желающих забеременеть после выполненной стерилизации, методом выбора являются ВРТ. В этом случае патологические изменения в оставленных маточных трубах могут ухудшать прогноз наступления беременности [Gizzo S. et al., 2014]. Было показано, что перевязка маточных труб приводит к снижению риска развития рака яичников на 34 % [Erickson B. K., Conner M. G., Landen C. N., 2013], СЭ снижает таковой на 64 % [Venturella R. et al., 2015].

В связи с вышеописанными данными, отношение к СЭ в гинекологической практике начинает меняться. В своем исследовании J. N. McAlpine et al. (2014) показали, что возросло число гистерэктомий, сопровождающихся билатеральной СЭ, а также СЭ стала чаще выполняться для хирургической стерилизации. Авторы подчеркивают, что особенно эти изменения касаются женщин моложе 50 лет. Исследования в разных странах показывают, что большая часть специалистов предпочитает выполнять гистерэктомию с СЭ при доброкачественных заболеваниях органов репродуктивной системы. Такой объем операции выбирается для снижения риска развития рака яичников, а также для профилактики повторных операции при развитии доброкачественных заболеваний оставшихся труб [Gill S. E., Mills B. B., 2013; Morosky C. M., Kueck K. D., 2014; Venturella R., Morelli M., Zullo F., 2015].

Таким образом, наблюдается значительное расширение показаний для удаления маточных труб, в том числе у женщин с нереализованными репродуктивными планами, что делает весьма актуальным вопрос сохранения и оценки резерва яичников после операции.

1.6. Влияние оперативного лечения органов женской репродуктивной системы на морфофункциональное состояние яичников

Гинекологические операции на матке и маточных трубах не сопровождаются прямым воздействием на яичники, однако изменения в них неизбежно приводят к изменениям ткани гонад, как элементов одной системы. Однозначного мнения о выраженности этих изменений и степени их влияния на репродуктивную функцию в настоящее время нет.

J. Dietl и J. Wischhusen (2014) описывают механизмы перераспределения кровотока яичника при гинекологических операциях. Во время гистерэктомии пересекается маточная артерия, однако предполагается, что оставшаяся яичниковая артерия способна компенсировать недостаток кровоснабжения. Более

того, при выполнении сочетанной СЭ, удаляется также трубная ветвь маточной артерии, таким образом, весь объем крови в норме снабжающий и трубу и яичник, направляется только к яичнику. Во время изолированной СЭ исход зависит от техники операции. При рассечении мезосальпинкса максимально близко к трубе повреждения сосудов не происходит при наиболее частом варианте расположения анастомоза. Однако доказано, что архитектура сосудов маточной трубы и яичника отличается высокой индивидуальной вариабельностью [Калашникова С. Н., Жарова Н. В., 2010]. В свете этих данных сложно оценить возможность выполнения «правильной» техники СЭ у каждой отдельной пациентки и предсказать, каким образом произойдет перераспределение кровотока после операции.

В течение почти 100 лет исследований накопилось большое количество клинических и экспериментальных данных о влиянии гистерэктомии на состояние яичников. Экспериментальные исследования первой половины XX века демонстрируют противоречивые результаты. Согласно ссылке В. Ranney et al., М.С. Shelesnyak и Н. Schwarz еще в 1944 г. описали угнетение роста фолликулов в яичниках крыс через 16 недель после гистерэктомии. Однако сами В. Ranney et al. (1949) не обнаружили никаких морфологических изменений в ткани яичника. Большинство современных исследователей поддерживают точку зрения о негативном влиянии гистерэктомии на морфофункциональное состояние оставшихся яичников, снижение овариального резерва и, следовательно, повышение риска ранней менопаузы [Chalmers С., 1996; Cooper G. S., Thorp Jr J. M., 1999; Farquhar С. M. et al., 2005; Xiangying H., Lili H., Yifu S., 2006; Moorman P. G. et al., 2011]. При сравнении объемов операции выявлено, что субтотальная ГЭ оказывает меньший негативный эффект на функциональные показатели ОР, в сравнении с тотальной [Yang X. J. et al., 2007; Yuan H. et al., 2015]. В экспериментальных и клинических исследованиях установлено, что после гистерэктомии наблюдается истощение фолликулярного аппарата яичников.

Установлено снижение общего количества растущих фолликулов через 3, 4, 6 и 12 месяцев после операции, снижение количества примордиальных фолликулов и увеличение количества атретических тел [Tapisiz O. L. et al., 2008; Toyganözü H. et al., 2014]. S. Özdamar et al. (2005) подчеркивают полное отсутствие первичных фолликулов в срезах через 6 месяцев после гистерэктомии и наличие признаков атрезии в подавляющем числе растущих фолликулов. A. Souza et al. (1986) при исследовании биоптатов яичников пациенток через 12 месяцев после операции выявили гиперплазию клеток стромы, утолщение белочной оболочки. В течение по крайней мере 6 месяцев после операции в яичниках обнаруживается большое, в сравнении с контролем, количество фолликулярных кист [Nahás E. A. P. et al., 2005]. Необходимо отметить, что ухудшение функциональных показателей ОР регистрируется максимально до 6 месяца послеоперационного периода, в более поздние сроки отмечается восстановление значений до исходных [Hehenkamp W. J. K. et al., 2007]. Механизм ухудшения состояния яичников после ГЭ отчасти может быть объяснен перерастяжением подвешивающей связки яичника и яичниковых артерии и вены, проходящих в ней, с последующим тромбозом и ухудшением кровоснабжения [Souza A. Z. et al., 1986; Bhattacharya S. et al., 1996]. При этом отдельные исследования не обнаруживают негативных эффектов ГЭ [Souza A. Z. et al., 1986; Bhattacharya S. et al., 1996, Lee D. Y. et al., 2010], а некоторые описывают даже кратковременное усиление овариального кровотока [Janson P. O., Jansson I., 1977; Nahás E. A. P. et al., 2005].

Перевязка маточных труб является распространенным методом стерилизации. При выполнении операции происходит повреждение части маточных труб и мезосальпинкса, сопровождающееся перераспределением кровотока в системе «яичник-маточная труба» [Cattanach J. F., Milne B. J., 1988; Tiras M. B. et al., 2001]. Гемодинамические изменения приводят к гипоксии тканей яичника [Kilic S. et al., 2008; Faramarzi A. et al., 2012], ухудшению его функции, нарушению процессов лютеинизации, что клинически проявляется снижением

концентрации прогестерона во вторую фазу цикла, повышением концентрации ФСГ, ановуляторным циклами до 12 месяцев после операции [Hakverdi A. U. et al., 1994; Fagundes M. L. et al., 2005], а также снижением количества антральных фолликулов и объема яичника [Özyer Ş. et al., 2012]. Реконструктивно-пластические операции также, по-видимому, приводят к гемодинамическим нарушениям в ткани яичника. У женщин с тремя и более операциями на маточных трубах в анамнезе отмечается снижение ОР и повышение частоты репродуктивных потерь в сравнении с женщинами с меньшим количеством операций [Ускова М.Н., 2010]. В противоположность этим данным E. M. Augen et al. (2002) не обнаружили значительных морфологических изменений в яичниках крыс после двусторонней перевязки маточных рогов.

Влияние СЭ на яичники также изучалось в клинике и эксперименте. Ряд экспериментальных работ в 80-х годах указывает на истощение фолликулярного аппарата после СЭ. P. McComb и L. Delbeke (1984) при пересечении сосудистого анастомоза между трубой и яичником у кроликов обнаружили снижение числа овуляций, в сравнении с группой контроля. A. Romeu et al. (1987) обнаружили снижение количества преовуляторных фолликулов в яичниках пациенток после сальпингэктомии. P. Ulug, G. Oner (2014) выявили, что удаление яйцеводов у крыс приводит к снижению количества растущих фолликулов и усилению процессов атрезии на 28-е сутки после операции. В подтверждение этим данным было отмечено снижение ФАС у пациенток по данным УЗИ [Chan C. S. W. et al., 2003], ухудшение ответа яичников на стимуляцию в цикле [Lass A. et al., 1997], ухудшение овариального кровотока [Nahás E. A. P. et al., 2005], повышение сывороточной концентрации ФСГ и снижение концентрации АМГ после СЭ [Ye X., Yang Y., Sun X., 2015]. После изолированной СЭ восстановление овуляторной функции происходит не ранее, чем через 6 месяцев [Сикорская Н. В., 2003].

При изучении отсроченных эффектов СЭ было обнаружено, что у пациенток позднего репродуктивного возраста, перенесших ГЭ с сочетанной СЭ

более выражены симптомы яичниковой недостаточности, отмечаются более низкие концентрации эстрадиола и худшие показатели кровотока в яичниковой артерии [Сирота И.В., 2008], чаще обнаруживаются кисты яичников, чем у пациенток с сохраненными маточными трубами [Repasy I. et al., 2009]. У пациенток молодого репродуктивного возраста, с СЭ в анамнезе, отмечается ухудшение ответа ипсилатерального яичника на контролируемую овариальную гиперстимуляцию [Orvieto R. et al., 2011]. Однако, G. Verhulst et al. (1994), P. Dar et al. (2000), A. Strandell et al. (2001) не выявили ухудшения ответа яичников на стимуляцию в цикле ВРТ после СЭ. Сохранение референсных значений гормонов до и после СЭ отмечались ранее в клинике [Garza-Flores J. et al., 2991; Sezik M. et al., 2007; Findley A. D. et al., 2013] и в эксперименте [Yu P. H. et al., 2015].

Единой точки зрения в вопросе о влиянии гинекологических операций и, в частности, СЭ на гонады не установлено до настоящего времени, несмотря на многочисленные попытки прийти к однозначному решению. Данные экспериментальных и клинических исследований часто не согласуются друг с другом, иногда приводя к совершенно противоположным выводам. Такая разнородность может быть объяснена разницей в технических нюансах операции, методологией и репрезентативностью отбора пациентов или животных для исследования, использованием различных методик исследования и вариабельностью критериев оценки, а также, возможно, региональными или этническими особенностями и средовыми факторами. Противоречивость научных данных демонстрирует наличие определенных факторов влияющих на состояние репродуктивной системы, действие которых мы можем наблюдать, но механизмы которых до сих пор остаются неясными.

1.7. Резюме

Генеративная функция яичника регулируется центральными и местными механизмами - гуморальными, нервными, ауто- и паракринными сигналами,

каждый из которых выполняет преобладающую функцию на определенном этапе развития половой клетки. Многоуровневые сложные связи между этими регуляторами обеспечивают высокую адаптивную способность яичника к действию повреждающих факторов. В клинической практике сывороточные концентрации гуморальных и паракринных факторов регуляции, а также данные УЗИ ОМТ позволяют определять ОР и косвенно оценивать состояние гормонально-зависимой и отчасти гормонально-чувствительной фаз фолликулогенеза.

Достаточно подробно изучено влияние операций на яичниках на состояние фолликулярного аппарата, их эндокринную функцию. При этом важную роль в патогенезе яичниковой недостаточности играет оксидативный стресс, и препараты, направленные на его уменьшение, способствуют нормализации морфофункционального состояния яичников после действия повреждающих факторов.

Менее изучено влияние на яичники операций на других органах репродуктивной системы, в частности СЭ. В последние годы в клинической практике появились принципиально новые показания для удаления маточных труб. Так называемая профилактическая сальпингэктомия выполняется, в том числе, пациенткам с гидросальпинксами перед ВРТ. Клинические и экспериментальные исследования часто демонстрируют противоречивые выводы о влиянии СЭ на репродуктивный потенциал яичников и исходы программ ВРТ, в связи с чем, изучение морфологического статуса яичников после данной операции является весьма актуальным.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Экспериментальная часть

Исходя из поставленных задач проведено экспериментальное удаление яйцеводов, в послеоперационном периоде проведена оценка морфофункционального состояния яичников, оценена концентрация ФСГ, АМГ и тестостерона в сыворотке крови.¹

Исследование проводилось на 60-ти половозрелых крысах-самках линии Wistar массой 180-220 г. Крысы были выбраны в качестве объекта исследования в связи со схожестью закономерностей регуляции овариально-менструального цикла, принципов строения системы крово- и лимфоснабжения, иннервации репродуктивных органов. Короткая продолжительность полового цикла крыс (5 дней) позволяет проводить оценку изменений в ходе эксперимента за относительно небольшой срок.

Оперативное вмешательство проводили с соблюдением правил асептики и антисептики под однократным внутримышечным наркозом «Zoletil-50» («Virbac Sante Animale», Франция) из расчета 0,1 мг на 1 кг массы тела экспериментального животного. Животных фиксировали в положении на спине на нейтральном электроде, обернутом марлей, смоченной в 0,9% растворе натрия хлорида. Кожу на животе выбривали, обрабатывали 70% хлоргексидиновым спиртом. Проводили срединную лапаротомию, длина разреза не более 2 см. Маточные рога и придатки выводили в рану и обкладывали стерильными салфетками, смоченными в 0,9% растворе натрия хлорида. Не ближе 2 мм от полюса яичника проводили коагуляцию яйцеводов с помощью биполярного зажима с браншами менее 1 мм при мощности 2-4 Вт (аппарат С-350 РЧ

¹ Часть эксперимента выполнена совместно с докторантом кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, к.м.н. Петровым И.А.

“Электропульс”, г. Томск, регистрационный номер: 42/99-1038-1411; сертификат соответствия № РОСС RU.МЕ41.В02148).

Мощность коагуляции и время экспозиции соответствовали объему органа, типу ткани, необходимой глубине воздействия и были подобраны с учетом рекомендаций разработчиков. Операционную рану ушивали послойно: брюшину и мышцы - совместно полидиоксаноном, кожу – отдельными шелковыми швами. После ушивания рану обрабатывали йодином. У крыс контрольной группы проводили лапаротомию, выведение маточных рогов и придатков в рану и последующее ушивание операционной раны без вмешательства на яичниках.

Оперативные вмешательства проводили в соответствии с техникой безопасности в электрохирургии. Продолжительность операции составляла 8-10 минут. При выполнении всех этапов операции соблюдали принципы асептики и антисептики, минимизации травмы тканей и кровопотери, максимального сокращения времени операции, не допускали повреждения ткани яичников.

Эксперименты выполнены на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии (заведующий – профессор С.В. Логвинов), на базе отдела нормальной физиологии и экспериментальной хирургии центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) (заведующий – профессор А.Н. Байков) СибГМУ.

Экспериментальных животных содержали в стандартных условиях в пластиковых клетках с мелкой древесной стружкой по 5 животных в клетке. Крысы находились при дозированном освещении (12:12 часов, свет в дневные часы) с контролируемым температурным режимом на стандартном питании (гранулированный корм ПК-120-3) с добавлением овощей, имели свободный доступ к воде и пище. Эксперимент проводили в весенний период. Ежедневно всех животных осматривали, отмечали их общее состояние, внешний вид, состояние операционных швов, регистрировали двигательную активность и пищевую возбудимость, массу тела измеряли на медицинских весах.

Выведение из эксперимента осуществляли декапитацией наркотизированных крыс на 2-е, 10-е, 30-е и 60-е сутки послеоперационного периода. При аутопсии визуально оценивали состояние органов брюшной полости – наличие и характер выпота, состояние брюшины, состояние яичников, наличие в них фолликулов, кистозных образований, кровоизлияний. Отработанный биологический материал утилизировался в специальные контейнеры через ЦНИЛ СибГМУ.

Эксперимент проведен на 60 крысах. 20 крыс с удаленными яйцеводами составили основную группу, 20 ложнооперированных и 20 интактных крыс – группы контроля.

Содержание и манипуляции над животными проводили в соответствии с требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), принципами Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным и Федерального Закона «О защите животных от жестокого обращения» (01.01.1997).

Эксперимент соответствовал требованиям этической экспертизы, протоколы локального этического комитета ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России №4499 от 24.02.2016 г.

2.1.1. Морфологические методы

Объектом исследования являлись яичники. Сразу же после взятия яичники фиксировали в жидкости Карнуа и 12% нейтральном формалине с последующей проводкой и заливкой в парафин. Депарафинированные срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Ван-Гизону.

Полученные препараты просматривали в микроскопе Биолам ЛОМО при увеличении окуляра x10, объектива x8, x20, x40, x100. 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 количественной оценки морфологических изменений в яичниках проводили морфометрию в соответствии с руководством Г.Г. Автандилова (1990). Подсчет примордиальных, растущих и зрелых фолликулов, атретических тел, желтых тел и удельного объема соединительной ткани проводили на серийных срезах через каждые 150-200 мкм ткани яичника. Гистеостереометрическое исследование проводили с использованием окулярной измерительной сетки, представляющей большой квадрат, содержащий 25 точек [Автандилов Г.Г., 1990]. Для определения удельных объемов структурно-тканевых элементов яичника пользовались фундаментальным принципом Кавальери-Акера-Глаголева: отношение числа точек, попавших на объект, к общему числу точек (P_p) равно удельной площади сечения объектов (S_a) и равно удельному объему объектов (V_v), т.е. $P_p = V_v = S_a$. Содержание структурных элементов подсчитывали в 100 полях зрения для каждого яичника.

Проводили иммуногистохимическое исследование экспрессии антимюллера гормона (АМГ) на парафиновых срезах толщиной 5-6 мкм с использованием авидин-биотиновой методики. Демаскировку антигена проводили в СВЧ-печи с использованием цитратного буфера (pH – 6,0). Для детекции антигена использовали специфический кроличий HRP/DAB detection kit (Abcam) и антитела к АМГ (Biorbyt). Блокирование неспецифической окраски, конъюгацию с первичными и вторичными антителами, стептавидин-пероксидазным комплексом и окраску хромогеном проводили в соответствии с инструкцией производителя. Докраску срезов проводили гематоксилином. Оценку степени выраженности экспрессии АМГ проводили в ядрах и цитоплазме клеток фолликулярного эпителия примордиальных, первичных, вторичных,

третичных и атретических фолликулов с помощью методики H-score [Goulding H. et al.,1995].

Клетки фолликулярного эпителия оценивали по степени выраженности окраски:

- 0 – неокрашенные
- 1 – слабо окрашенные
- 2 – средней степени окрашенности
- 3 – ярко окрашенные

Степень выраженности окраски фолликула оценивали по следующей формуле:

$\% \text{ слабоокрашенных клеток} + \% \text{ средне окрашенных клеток} \times 2 + \% \text{ сильно окрашенных клеток} \times 3.$

Результат выражали в баллах от 0 до 300, где 0 баллов соответствуют отсутствию окраски, 300 – максимальной выраженности окраски фолликула.

2.1.2. Лабораторные методы

С целью оценки влияния удаления яйцеводов на овариальный резерв проводили определение в сыворотке крови опытных животных концентрации ФСГ, тестостерона и АМГ методом ИФА в лаборатории ООО «ДиаТомПлюс», г. Томск. Концентрацию АМГ определяли с помощью набора реагентов фирмы Beckman Coulter, Inc. (США), ФСГ и тестостерона – ООО «НПО «Диагностические системы» (Россия). Оценку полученных данных проводили путем сопоставления данных с контролем, литературными данными и нормативными показателями фирм-изготовителей. Забор крови для гормонального исследования проводили на 10-е и 60-е сутки под внутримышечным наркозом перед декапитацией путем пункции сердца с помощью шприца объемом 5 мл. Для получения сыворотки кровь центрифугировали; хранили при температуре -20оС. Исследования всех образцов проводились одномоментно, при одинаковых условиях. Лабораторное

исследование проводилось согласно инструкциям фирм-производителей, приложенным к набору реагентов.

2.2. Клиническая часть

Проведено ретроспективное исследование историй болезни пациенток репродуктивного возраста, находившихся на лечении в гинекологической клинике ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России с 2012 по 2013 год с диагнозом бесплодие трубно-перитонеального генеза.

Для снижения вероятности систематической ошибки, связанной с отбором, для формирования исследуемых групп использовались критерии включения/исключения.

Критерии включения: 1) одно- или двусторонняя сальпингэктомия в анамнезе (основная группа исследования); 2) факторы бесплодия по ВОЗ: приобретенная патология маточных труб - двусторонняя окклюзия; 3) репродуктивный возраст (18-41 год); 4) наличие информированного согласия пациентки на проведение исследования.

Критерии исключения: 1) сочетанное бесплодие; 2) наличие операции на яичниках в анамнезе; 3) наличие операции на матке в анамнезе; 4) предраковые и злокачественные заболевания органов репродуктивной системы; 5) соматическая патология в стадии декомпенсации; 6) отказ пациентки от участия в исследовании.

После соотнесения с критериями включения/исключения в исследование вошли истории болезни 101 пациентки. Основную группу составили 69 пациенток с радикальными операциями на маточных трубах в анамнезе. Группу сравнения - 32 женщины с двусторонней окклюзией маточных труб, не имеющие в анамнезе операций на маточных трубах. Так как одним из важных факторов, оказывающих влияние на ОР является возраст [J. Ou et al., 2015], исследуемые группы были

разделены на подгруппы: А - раннего репродуктивного возраста (18-35 лет), Б – позднего репродуктивного возраста (36-41 год).

Табл.1. Объект исследования.

I. Основная группа <i>Женщины с СЭ в анамнезе</i>		II. Группа сравнения <i>Женщины без СЭ в анамнезе</i>		III. Контрольная группа <i>Условно здоровые женщины</i>
А 18-35 лет (n=50)	Б 36-41 год (n=19)	А 18-35 лет (n=17)	Б 36-41 год (n=15)	А 18-35 лет (n=15)

Контрольную группу составили 15 условно здоровых женщин без оперативных вмешательств на органах малого таза.

Диагностический алгоритм исследования включал изучение данных анамнеза с учетом жалоб, результатов общего и гинекологического осмотра (осмотр наружных половых органов, влагалища и шейки матки в зеркалах, бимануальное исследование), стандартных методов исследования согласно клиническому протоколу, микробиологических анализов цервикальной слизи и влагалищного секрета (бактериоскопия, ПЦР-диагностика ИППП), мазков эндоцервикса на онкоцитологию. С целью оценки гормонального статуса и ОР в исследуемых группах проводилось определение в сыворотке крови ФСГ, эстрадиола, ЛГ, тестостерона, АМГ, ингибина В на 2-4 день менструального цикла, прогестерона на 22-23 день менструального цикла в методом иммуноферментного анализа. Исследование концентраций гормонов выполнялось в естественном цикле, контролируемая индукция овуляции пациенткам не проводилась. Также оценивались данные ультразвукового исследования органов малого таза (выполнено на аппарате SSD-3500, HITACHI ALOCA Medical, Япония) – размеры матки и яичников, состояние миометрия, эндометрия, фолликулярного аппарата яичников. Для оценки ОР учитывались результаты определения объема яичников, числа антральных фолликулов на 3-4 день

менструального цикла. Сочетанная гинекологическая патология устанавливалась по клинико-анамнестическим данным, протоколам гистероскопии и лечебно-диагностической лапароскопии, выполненных по поводу диагноза бесплодие эндоскопической бригадой гинекологической клиники СибГМУ (эндоскопическая стойка фирмы «Karl Storz», Германия), заключениям гистологического исследования биоптатов эндометрия. Тяжесть спаечного процесса оценивалась согласно классификации J. Hulka et al. (1985) и Американского общества фертильности (AFS) [J.F Hulka, H. Reich, 1985]. Для оценки проходимости маточных труб всем пациенткам выполнялась хромогидротубация.

Табл.2. Дизайн исследования

Этап исследования	Исследуемые группы				
Клинико-анамнестическая оценка	I. Основная группа (n=69)			II. Группа сравнения (n=32)	
Исследование маркеров ОР	I. Основная группа		II. Группа сравнения		III. Контрольная группа
	А 18-35 лет (n=50)	Б 36-41 год (n=19)	А 18-35 лет (n=17)	Б 36-41 год (n=15)	А 18-35 лет (n=15)
Исследование характеристик циклов ВРТ	I. Основная группа			II. Группа сравнения	
	А 18-35 лет (n=50)	Б 36-41 год (n=19)	А 18-35 лет (n=17)	Б 36-41 год (n=15)	

Для оценки характеристик программ ВРТ проводился анализ индивидуальных карт пациенток, протоколов индукции суперовуляции, трансвагинальной пункции фолликулов, культивирования ооцитов и эмбрионов, переноса свежих эмбрионов в полость матки. Учитывались следующие показатели: общая доза гонадотропинов в цикле, количество пунктируемых фолликулов, количество и качество полученных ооцитов, количество и качество

эмбрионов на 3 и 5 сутки культивирования, количество клинических беременностей, количество беременностей, закончившихся родами.

Клиническое исследование проведено в соответствии с национальным стандартом ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика», идентичным ICH GCP (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; Good Clinical Practice).

2.3. Статистические методы

Анализ результатов проводили на персональном компьютере с использованием программы IBM SPSS Statistics v.22.0. Форма распределения проверялась с помощью критерия Шапиро-Уилка (нормальное распределение при $p > 0,05$), гомогенность дисперсий – критерием Левена. Результаты оценивались Н-тестом Краскела-Уоллиса.

В случае нормального распределения данные оценивали с учетом средней арифметической ряда (M) и стандартного квадратичного отклонения (σ); для оценки значимости различий использовали параметрический метод (t-тест Стьюдента).

При распределении значений показателей, не соответствующих нормальному, данные представлены в виде медианы (Me) и 5-го и 95-го перцентилей (Q_5 и Q_{95} , соответственно). При распределении значений, отличных от нормального, апостериорные тесты проводились непараметрическим методом – U-тестом Манна-Уитни с критическим уровнем значимости $p = 1 - 0,95^{1/n}$ (где, n – количество сравнений). Анализ качественных независимых данных проводили с использованием χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера (при ожидаемой частоте значений менее 5).

Для выявления корреляционных связей линейной зависимости между двумя количественными показателями применяли вычисление параметрического

коэффициента корреляции Пирсона и рангового коэффициента корреляции Спирмена. Силу зависимости определяли по величине коэффициента корреляции r : при $r > 0,8$ предполагали сильную корреляцию; $0,6 < r < 0,8$ – среднюю корреляцию; $r < 0,6$ – слабую корреляцию.

Значения с уровнем значимости $p > 0,05$ считали незначимыми, $p [0,05; 0,01]$ – неопределенно значимыми, $p [0,01; 0,001]$ – значимыми, $p < 0,001$ – высоко значимыми.

Математическая и статистическая обработка материала выполнена автором лично.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1. Общая характеристика подопытных животных

В первые сутки послеоперационного периода у животных основной группы и группы ложнооперированного контроля отмечалось ухудшение общего состояния, снижение двигательной активности на фоне нормального пищевого поведения, выраженное втяжение боков (симптом раздражения брюшины). К 5-7 суткам у всех животных двигательная активность, возбудимость, пищевое поведение были сравнимы с таковыми до операции, воспалительные процессы в области операционной раны не наблюдались. В дальнейшем ухудшения состояния животных не наблюдалось.

При аутопсии на 2-е сутки эксперимента в брюшной полости животных основной группы обнаруживался серозный, в отдельных случаях серозно-геморрагический экссудат в небольшом количестве. Отмечалась инъекция сосудов брюшины, матки и маточных рогов. Обнаруживались единичные рыхлые спайки между сальником и маточными рогами, которые легко удалялись. При аутопсии яичники располагались в брюшной полости свободно, имели типичный вид, гладкую мелкобугристую поверхность, их размеры не превышали 5 мм.

На 10-е сутки эксперимента у животных основной группы при аутопсии отмечалась слабо выраженная гиперемия брюшины, матки и маточных рогов, в отдельных случаях обнаруживался серозный экссудат в небольшом количестве. Спаечный процесс носил распространенный характер, отмечались бессосудистые, легко удаляющиеся, висцеро-висцеральные спайки. Макроскопическое строение яичников не отличалось от такового в предыдущей точке эксперимента, размеры не превышали 5 мм.

При аутопсии на 30-е и 60-е сутки эксперимента у всех животных отмечалось отсутствие выпота и сосудистой реакции органов брюшной полости.

У животных после удаления яйцеводов наблюдался распространенный спаечный процесс брюшной полости с плотными, трудно поддающимися удалению висцеро-висцеральными спайками. Яичники имели типичный вид, определялись кисты диаметром до 2 мм, с прозрачным секретом, за счет которых размеры яичников увеличивались до 6-7 мм (Рис. 1).

При исследовании влагалищных мазков у животных основной группы до 8-10-х суток эксперимента наблюдались признаки стадии диэструса - преобладание поверхностных и промежуточных клеток, небольшое количество лейкоцитов в поле зрения, большое количество слизи. Начиная с 8-10-х суток эксперимента, наблюдалось восстановление эстрального цикла у большинства животных. У животных контрольных групп наблюдались кольпоцитологические изменения, соответствующие нормальным эстральным циклам.

У животных основной группы общее состояние, поведение, состояние брюшины и внутренних органов при аутопсии соответствовали типичному течению послеоперационного периода, проявляющегося развитием асептического воспаления в области оперативного вмешательства, сопровождающегося экссудативными изменениями в раннем послеоперационном периоде с последующим переходом в стадию пролиферации. Формирование кист на 30-е и 60-е сутки эксперимента свидетельствовало о неполном восстановлении генеративной функции яичника и, вероятно, нарушении регуляции полового цикла.

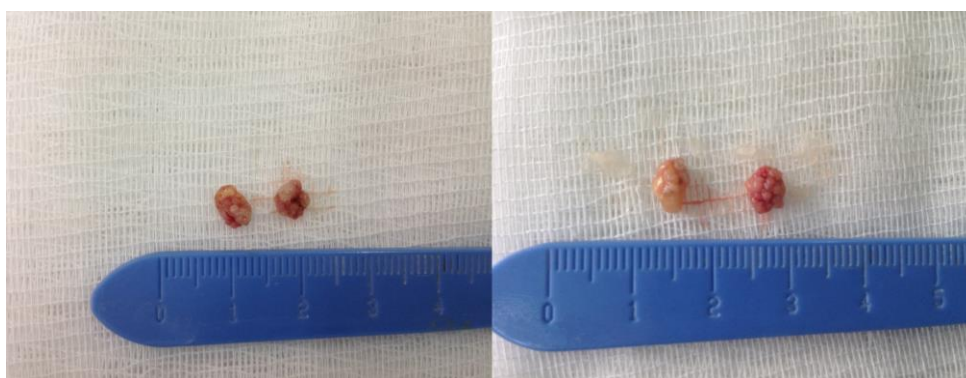


Рис. 1. Слева – яичники крысы группы ложнооперированного контроля; справа – яичники крысы основной группы на 30-е сутки после удаления яйцеводов.

3.2.1. Морфологические изменения в яичниках крыс после удаления яйцеводов

После экспериментального удаления яйцеводов у крыс в яичниках отмечались изменения, типичные для воспаления, признаки атрезии растущих фолликулов, формирование функциональных кист на поздних сроках эксперимента.

На вторые сутки после удаления яйцеводов в яичниках обнаруживались очаги лейкоцитарной инфильтрации мозгового вещества, желтых тел, единичные лейкоциты в корковом веществе, в окружении атретических фолликулов и периваскулярно (рис. 1). Нарушение гемодинамики проявлялось полнокровием сосудов венозного типа в корковом и мозговом веществе (рис. 2). В сосудах были обнаружены явления престаза и стаза форменных элементов, отмечалось краевое стояние лейкоцитов в венах мозгового вещества (рис. 3). Отмечались очаги кровоизлияния в мозговом и корковом веществе.

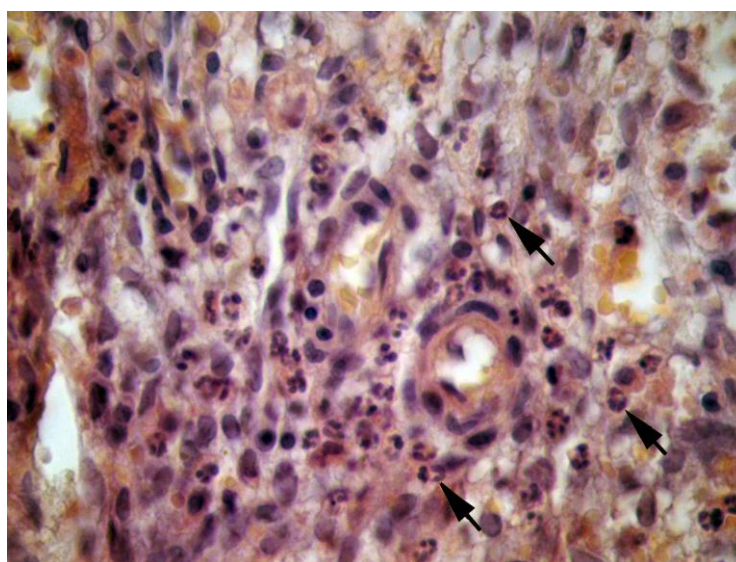


Рис. 1. Лейкоцитарная инфильтрация (стрелки) мозгового вещества яичника крысы через 2-е суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. х 400.

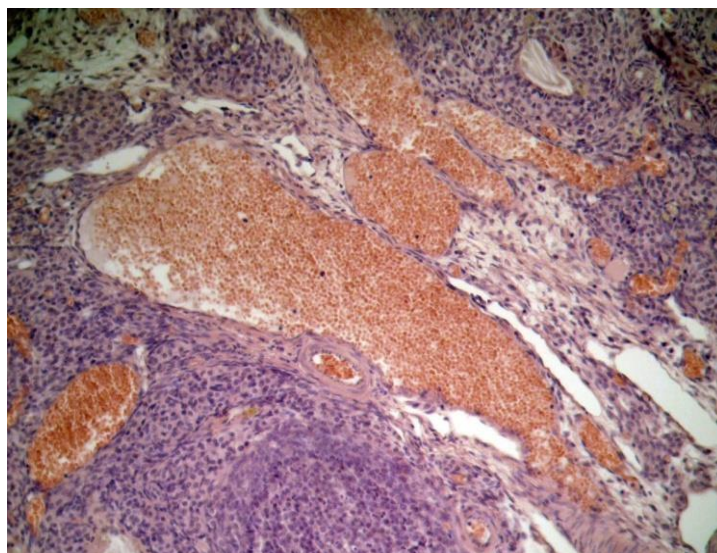


Рис. 2. Полнокровие сосудов коркового вещества яичника крысы через 10 суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. х 100.

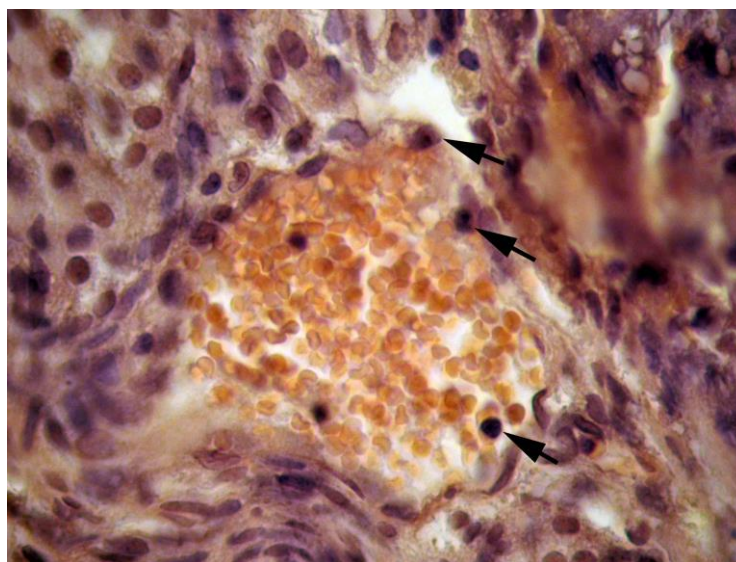


Рис. 3. Краевое стояние лейкоцитов (стрелки) в вене мозгового вещества яичника крысы через 2-е суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. х 1000.

Фолликулярный аппарат был представлен фолликулами всех стадий развития. В большом количестве растущих фолликулов наблюдались признаки дегенерации ооцита: уменьшение размеров клетки, утолщение блестящей оболочки, отек и вакуолизация цитоплазмы, повышения её сродства к красителю, гомогенизация, вплоть до полного разрушения клетки (рис. 4,5).

Нарушения в овосоматическом окружении проявлялись дисконкомплексацией фолликулярного эпителия, изменением формы фолликулярных клеток, кариорексисом, слущиванием фолликулярных клеток в полость, отсутствием митозов, гипертрофией и полнокровием внутренней текальной оболочки (рис. 5-8). Патологические изменения в примордиальных фолликулах не регистрировались во все сроки эксперимента (рис. 9).

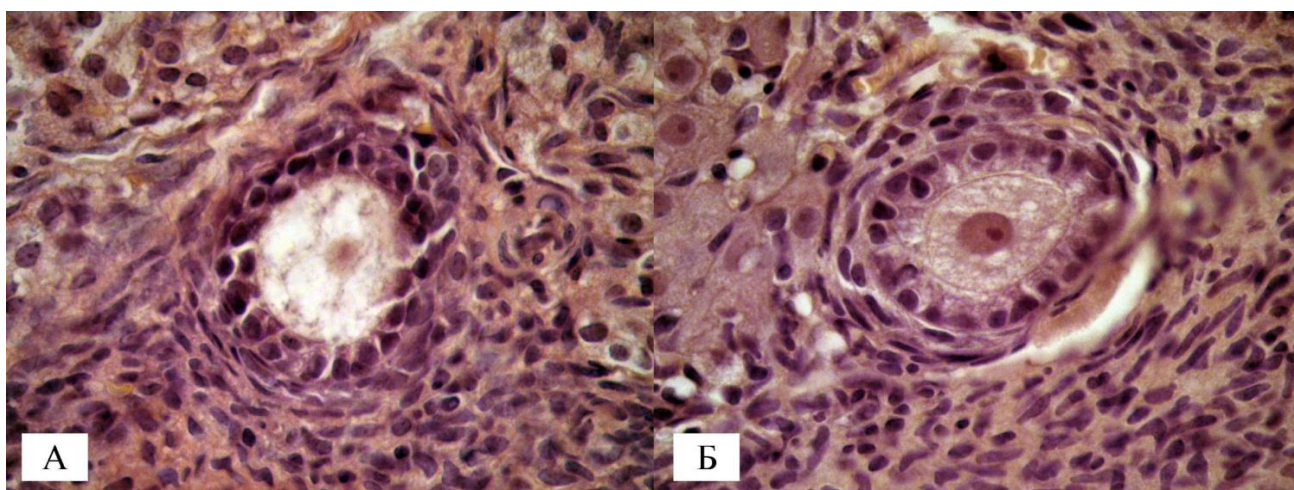


Рис. 4. Ооциты в фолликулах яичников крыс разных групп: А - вакуолизация цитоплазмы ооцита первичного фолликула через 10 суток после удаления яйцеводов.; Б – ооцит без признаков дегенерации в первичном фолликуле через 10 суток после лапаротомии. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. x 1000.

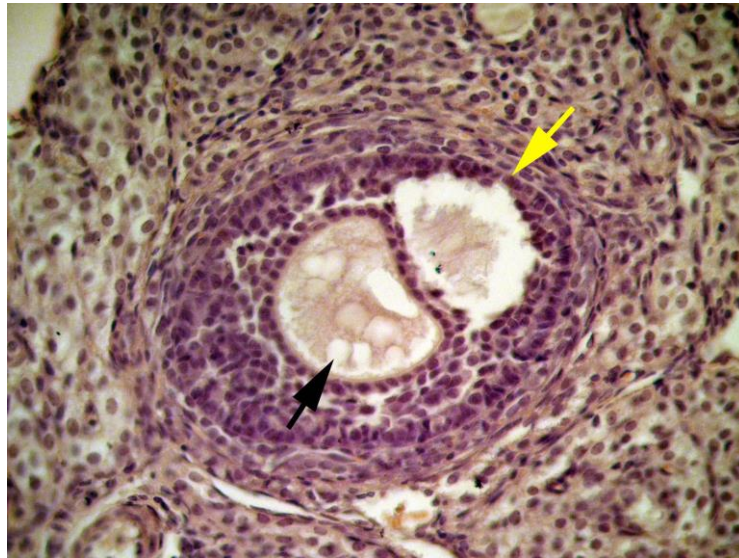


Рис. 5. Деформация и отек ооцита (черная стрелка), дисконкомплексация фолликулярного эпителия (желтая стрелка) вторичного фолликула через 30 суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. х 200.

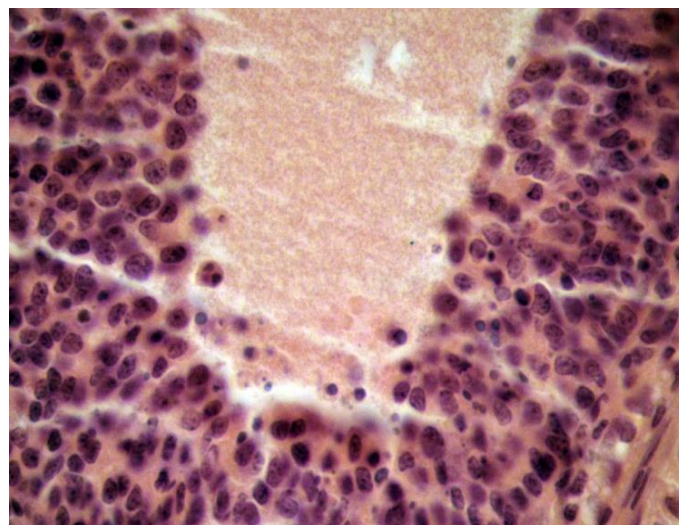


Рис. 6. Дисконкомплексация фолликулярного эпителия, кариорексис в фолликулярных клетках вторичного фолликула через 2-е суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. х 400.

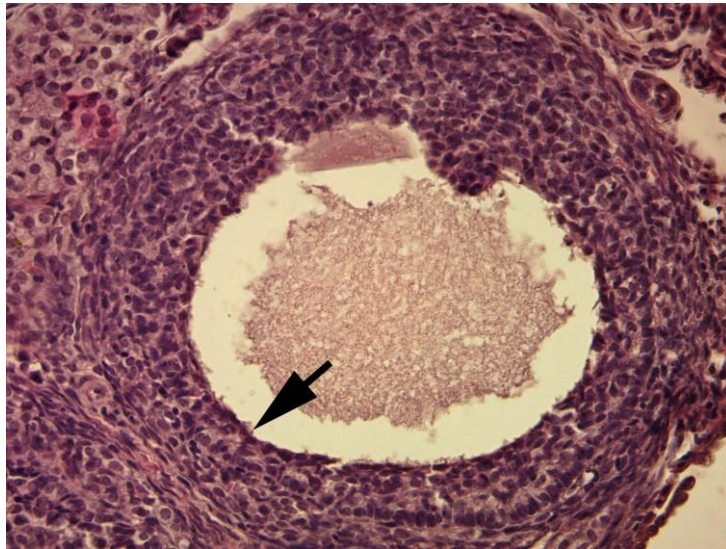


Рис. 7. Изменение формы фолликулярных клеток (стрелка), гибель ооцита, дискомплексация фолликулярного эпителия атретического фолликула через 60 суток после удаления яйцеводов. Стрелками указаны границы theca interna. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. x 200.

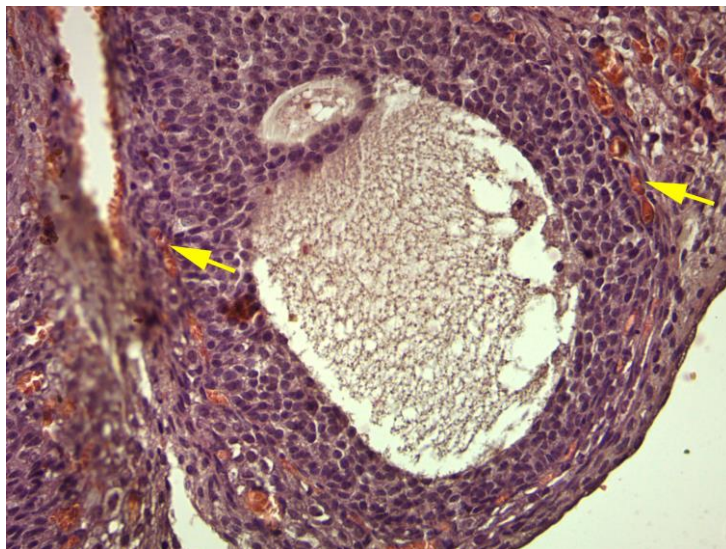


Рис. 8. Полнокровие внутренней текальной оболочки атретического фолликула (стрелки) через 2-е суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. x 400.

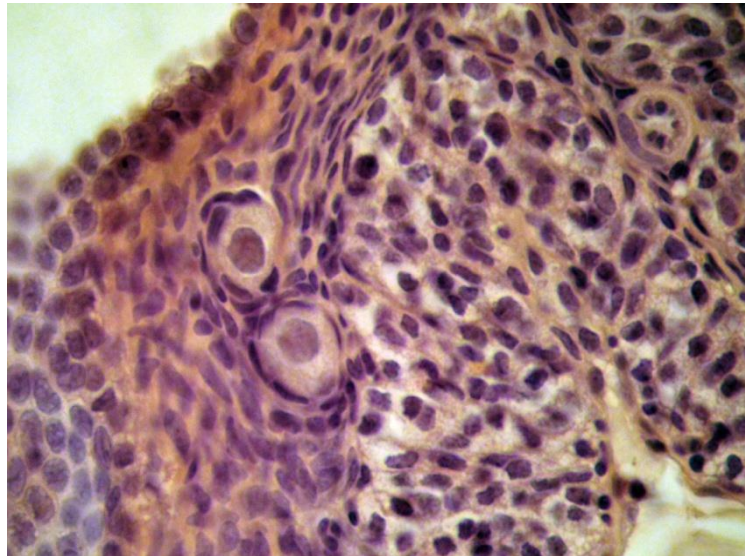


Рис. 9. Неизмененные примордиальные фолликулы в яичнике через 30 суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. x 1000.

При атрезии первичных фолликулов первым погибал ооцит, иногда на месте разрушенного ооцита формировались полости, стенки которых были представлены сохранившимися клетками фолликулярного эпителия. В преантральных фолликулах при атрезии одновременно с дегенерацией ооцита и клеток гранулезы происходила гипертрофия теки, что в итоге приводило к формированию атретического тела. Атретические тела, как правило, обнаруживались в одном регионе яичника, что может свидетельствовать о нарушении местной гемодинамики, как о причине атретических изменений. После гибели ооцита утолщенная блестящая оболочка сохранялась вплоть до формирования атретического тела (рис. 10).

Желтые тела были представлены разными стадиями развития. Большинство имели хорошо сформированную сосудистую сеть, в части обнаруживались свежие кровоизлияния, что характерно для ранней стадии развития желтого тела, сформировавшегося после овуляции, и свидетельствует о сохранности генеративной функции яичника (рис. 11).

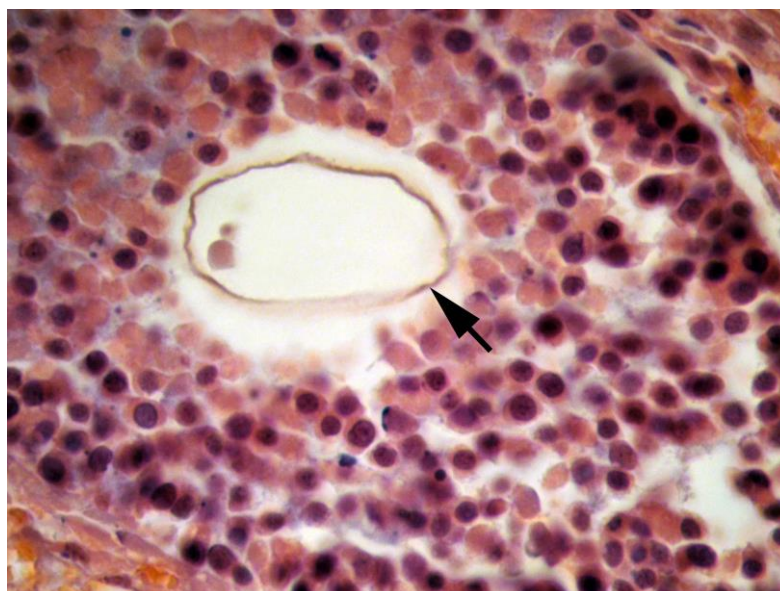


Рис. 10. Блестящая оболочка в атретическом фолликуле яичника крысы через 2-е суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. x 1000.

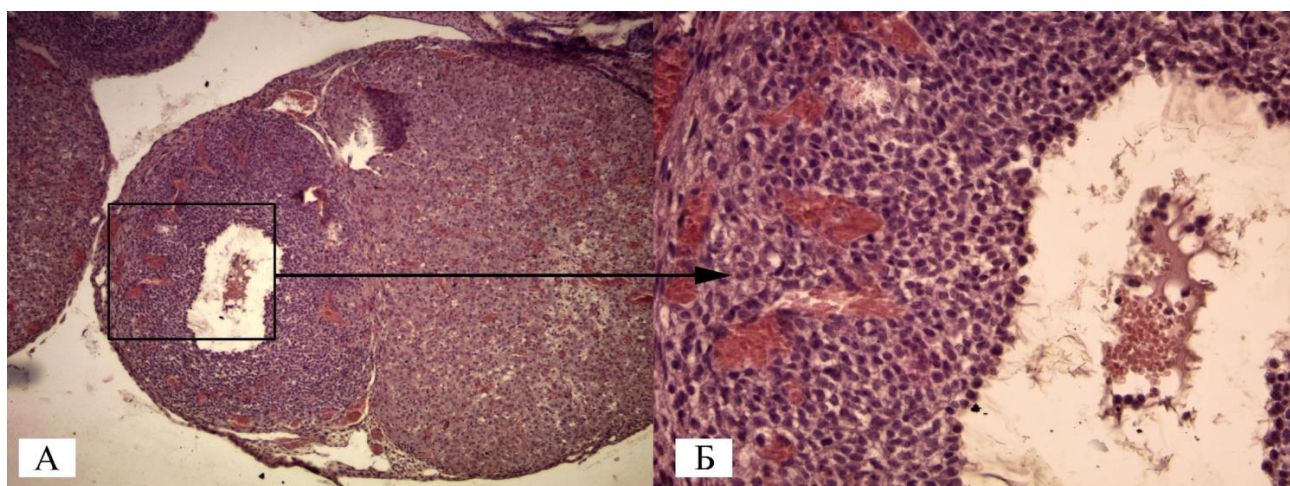


Рис. 11. Стадия пролиферации и васкуляризации желтого тела – пролиферация фолликулярного эпителия, образование в нем сосудов, кровоизлияние в центральной полости в яичнике крысы через 30 суток после удаления яйцеводов: А – ув. x 100; Б – ув. x 400. Окраска: гематоксилином и эозином.

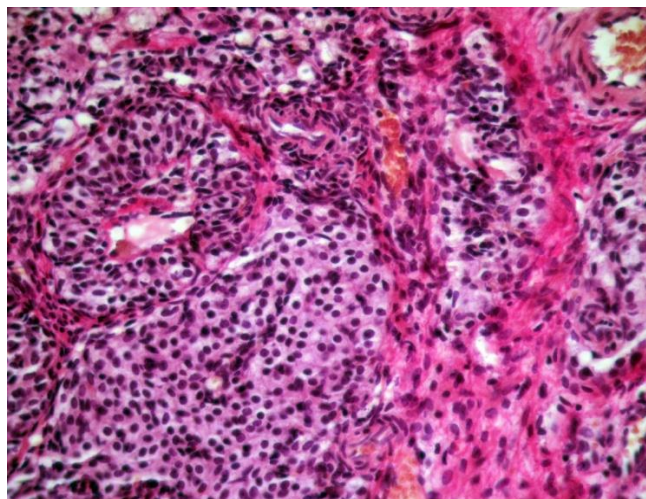


Рис. 12. Коллагеновые волокна в корковом веществе яичника через 10 суток после удаления яйцеводов. Окраска: по Ван-Гизону. Ув. х 400.

На препаратах, окрашенных по Ван-Гизону, выявлялись коллагеновые волокна, формирующие толстые пучки в строме органа, в окружении нормальных и атретических фолликулов, желтых тел и сосудов (рис. 12). Выраженное диффузное разрастание коллагеновых волокон отмечалось в яичниках крыс на 10-е сутки после удаления яйцеводов.

На 10-е сутки эксперимента в срезах яичников обнаруживались единичные лейкоциты в мозговом и корковом веществе. Отмечалось умеренное полнокровие венозного русла, в сосудах мозгового вещества отмечалось краевое стояние лейкоцитов, наблюдался выход единичных лейкоцитов из сосудов. На 30-е и 60-е сутки эксперимента в яичниках отсутствовали воспалительные изменения. В отдельных яичниках наблюдалось умеренное полнокровие венозного русла.

Дегенеративные фолликулы всех стадий развития встречались в корковом веществе наряду с неизменными во все сроки эксперимента. А также во все сроки в срезах наблюдались атретические и желтые тела, в том числе наблюдались характерные постовуляторные изменения доминантного фолликула.

Начиная с 30-х суток, в яичниках обнаруживались фолликулярные кисты различных размеров. В зависимости от стадии развития, выстилка кист была представлена несколькими слоями тесно расположенных фолликулярных клеток либо одним рядом уплощенных эпителиальных клеток (рис. 16). Гипертрофия внутренней и наружной теки не определялась, что позволяет думать об отсутствии в них стероидной активности. На 60-е сутки эксперимента обнаруживались типичные фолликулярные кисты, а также кисты с частичной лютеинизацией стенки – в небольшом участке стенки кисты обнаруживалось скопление лютеиновых клеток, на остальном протяжении стенка была представлена уплощенными, веретенообразными клетками теки, полость выстлана слоем плоских клеток. Лютеиновых кист с типичным строением обнаружено не было. В отдельных яичниках обнаруживались значительные по размеру ретенционные полости, стенку которых составляли несколько рядов уплощенных клеток, выстилка была представлена дистрофически измененным эпителием, на отдельных участках выстилка отсутствовала (рис. 17). В полости определялось гомогенное эозинофильное содержимое, морфологически сходное с фолликулярной жидкостью. Ооциты в кистозных полостях не обнаруживались.



Рис. 16. Фолликулярная киста в яичнике крысы через 30 суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. х 200.

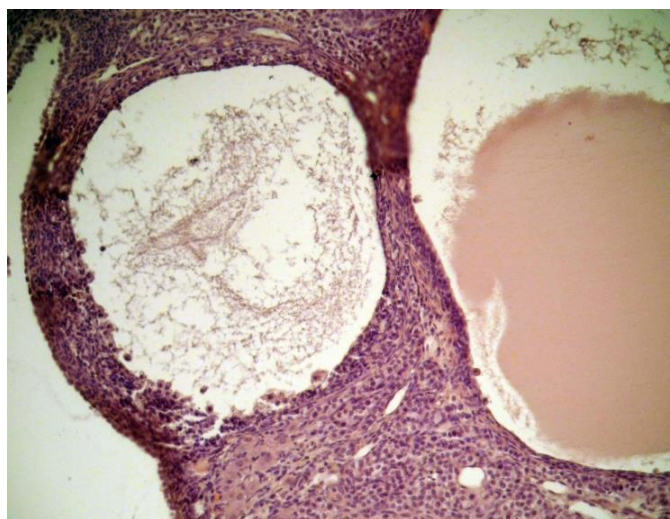


Рис. 17. Фолликулярная киста (слева) и ретенционная полость (справа) в яичнике крысы через 60 суток после удаления яйцеводов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. х 200.

С увеличением срока эксперимента отмечалось увеличение количества кист в срезах, во все сроки определялись кисты без дегенеративных изменений, с начальными признаками дегенерации и ретенционные полости, представляющие собой конечную стадию дегенерации функциональной кисты. Зачастую все эти виды кист обнаруживались в одном яичнике.

Таким образом, после удаления яйцеводов в яичниках крыс наблюдались выраженные процессы атрезии, проявляющееся преимущественно дегенеративными изменениями в ооцитах, гемодинамические нарушения и очаговая лейкоцитарная инфильтрация в раннем послеоперационном периоде, образование функциональных кист в отдаленные сроки эксперимента. Несмотря на указанные патологические изменения, на поздних сроках эксперимента обнаруживались неизменные растущие фолликулы, а также желтые тела, что говорит о сохранности овуляции, включении компенсаторных процессов в яичнике и сохранении его генеративной функции.

3.2.2. Некоторые показатели морфоколичественного исследования яичников крыс после удаления яйцеводов

Для количественной оценки изменений в яичниках крыс после экспериментального удаления яйцеводов было проведено морфоколичественное исследование.

При изучении яичников крыс контрольных групп в ходе эксперимента отмечалась тенденция к снижению количества растущих фолликулов преимущественно за счет вторичных, однако статистическое исследование не выявило значимых различий ($p=0,131$ в ложнопериованном и $p=0,08$ в интактном контроле). Также не было выявлено значимой динамики количества примордиальных фолликулов, атретических и желтых тел ($p=0,105$, $p=0,106$ и $p=0,147$, соответственно в ложнопериованном контроле и $p=0,084$, $p=0,059$ и $p=0,063$, соответственно в интактном контроле), поэтому для сравнения показателей использовались усредненные значения. Статистический анализ не выявил значимых различий содержания генеративных элементов между обеими контрольными группами.

Содержание генеративных элементов в срезах яичников крыс основной и контрольных групп представлено на рис. 18. При оценке изменений в яичниках крыс основной группы в ходе всего эксперимента было выявлено наличие значимой динамики таких показателей, как количество вторичных, третичных фолликулов, общего количества растущих и зрелых фолликулов, атретических и желтых тел ($p<0,001$ для всех перечисленных показателей). Количество примордиальных и первичных фолликулов в ходе эксперимента значимо не менялось ($p=0,32$ и $p=0,998$, соответственно). Количество примордиальных фолликулов в срезе яичников в основной группе во все сроки эксперимента не отличались от такового в контрольных группах.

На вторые сутки после удаления яйцеводов в срезах яичников крыс наблюдалось небольшое, но статистически значимое увеличение общего

количества растущих фолликулов в сравнении с таковым в ложнооперированном контроле ($p=0,04$). При этом количество недавно вступивших в рост первичных фолликулов составило $0,56 \pm 0,938$ ($0; 0-3,2$)² и было ниже, чем в обеих контрольных группах ($p=0,012$, $p=0,034$)³. Одновременно количество атретических фолликулов и тел снижалось в 2 раза в сравнении с таковым в интактном ($p<0,001$) и ложнооперированном контролях ($p<0,001$).

На 10-е сутки опыта, несмотря на некоторое возрастание количества третичных фолликулов ($p<0,001$), в яичниках крыс основной группы наблюдалось снижение общего количества растущих фолликулов как относительно групп контроля, так и относительно предыдущего срока эксперимента ($p<0,001$, $p=0,038$ и $p<0,001$, соответственно). Количество первичных фолликулов продолжало оставаться низким ($p=0,005$, $p=0,018$), также появилась значимая тенденция к снижению количества вторичных фолликулов ($p<0,001$) – это показатель резко уменьшался с $7,82 \pm 4,963$ ($6,0; 2,6-18,0$) в предыдущем сроке до $3,45 \pm 4,283$ ($3,5; 1,0-6,95$). Наряду с этим, снижалось количество атретических фолликулов и тел ($p<0,001$ для обеих групп) и желтых тел в сравнении с контрольными значениями ($p<0,001$ для обеих групп).

К 30-м суткам эксперимента наблюдалось удвоение количества атретических фолликулов и тел в срезе относительно такового в предыдущем сроке ($p=0,004$), тем не менее данный показатель был ниже контрольных значений ($p<0,001$ для обеих групп). Общее количество растущих и зрелых фолликулов при сравнении с таковым на 10-е сутки оставалось неизменным ($p=0,804$).

² Здесь и далее для удобства восприятия значения приведены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm m$), в скобках приведены медиана и 5-й и 95-й процентиля ($Me; Q_5-Q_{95}$), как более корректные, с точки зрения статистического анализа

³ Здесь и далее при сравнении основной группы с группами контроля в скобках указывается уровень значимости (p) сначала для сравнения с интактным контролем, а затем - с ложнооперированным.

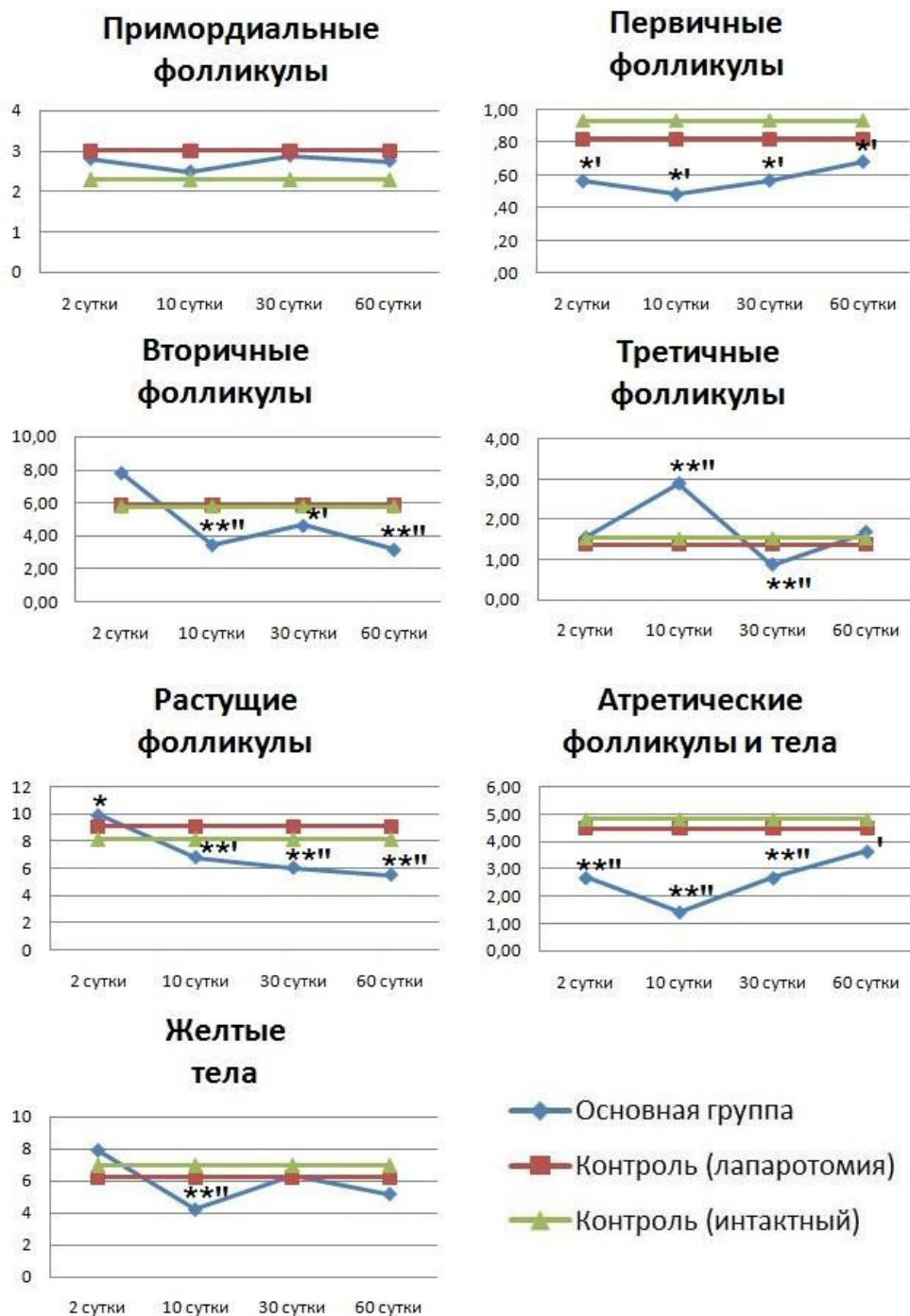


Рис. 18. Динамика количества генеративных элементов в срезах яичников яичников белых крыс в различные сроки эксперимента, $M \pm m$.

Примечание: * - в сравнении с ложнооперированным контролем выявлены различия со значимостью $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$; ' - в сравнении с интактным контролем выявлены различия со значимостью $p < 0,05$; " - $p < 0,001$.

На 60-е сутки эксперимента количество атретических фолликулов и тел удваивалось, достигая контрольного значения группы после лапаротомии ($p=0,556$), и составило $3,64 \pm 2,16$ (4,0; 0-7,0). Сопоставимо с контрольными значениями в этом сроке также было количество третичных фолликулов ($p=0,541$, $p=0,072$). Сниженными оставались количество первичных и вторичных фолликулов ($p=0,016$, $p=0,046$ для первичных и $p<0,001$ в обеих группах для вторичных фолликулов) и, как следствие, общее количество растущих и зрелых фолликулов ($p<0,001$ при сравнении с обеими контрольными группами). Таким образом, к концу эксперимента количество первичных фолликулов составило $0,68 \pm 1,14$ (0; 0-3,0), при таковом в ложнооперированном контроле $0,94 \pm 1,01$ (1; 0-1,0); количество вторичных фолликулов - $3,17 \pm 2,32$ (3; 0-8,0), при таковом в ложнооперированном контроле $5,8 \pm 3,07$ (6,0; 4,0-8,0); общее количество растущих и зрелых фолликулов - $5,53 \pm 3,48$ (5,0; 2,0-13,0), при таковом в ложнооперированном контроле $9,08 \pm 4,07$ (8,0; 9,5-1,0).

При оценке динамики показателей выявлено, что во все сроки эксперимента сохранялась тенденция к снижению количества растущих фолликулов относительно контрольных значений. В зависимости от сроков эксперимента в структуре пула растущих фолликулов наблюдались различия. Количество вторичных и третичных фолликулов зависело друг от друга обратно пропорционально, формируя две “волны” созревания фолликулов. Увеличение количества третичных фолликулов наблюдалось на 10-е и 60-е сутки эксперимента ($p=0,036$ и $p<0,001$, соответственно) и совпадало со снижением количества желтых тел ($p<0,001$ и $p=0,001$, соответственно). Корреляционный анализ показал наличие статистически значимой слабой отрицательной зависимости в динамике вторичных и третичных фолликулов ($r=-0,181$, $p=0,004$), третичных фолликулов и желтых тел ($r=-0,237$, $p<0,001$), и слабой положительной зависимости в динамике вторичных фолликулов и желтых тел ($r=0,334$, $p<0,001$).

Для оценки межтканевого взаимодействия и роли структурных компонентов яичников при изменениях, происходящих после удаления яйцеводов, проводился подсчет удельного объема структурно-тканевых элементов в срезах яичников с помощью окулярной измерительной сетки Автандилова. Результаты исследования представлены на рис. 19. Методом статистического анализа в яичниках крыс контрольной группы не было выявлено значимой динамики, поэтому для сравнения показателей с основной группой используются усредненные значения. Статистический анализ не выявил значимых различий удельного объема структурных компонентов в яичниках крыс контрольных групп.

Статистический анализ данных основной группы выявил, что в ходе эксперимента в яичниках крыс значительно изменялся удельный объем растущих фолликулов, атретических тел и фолликулов, желтых тел, кист, стромы и артерий ($p=0,002$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,001$, $p=0,012$ и $p=0,004$, соответственно). Удельный объем венозного русла в ходе эксперимента менялся статистически не значимо ($p=0,134$).

В течение всего наблюдаемого послеоперационного периода в яичниках крыс основной группы обращает на себя внимание стойкое снижение удельного объема компонентов фолликулярного аппарата. На 2-е сутки эксперимента удельный объем атретических фолликулов и тел составлял $5,59\pm 4,34$ (4,17; 0-14,44) и превышал данный показатель в контрольной группе ($p<0,001$), при этом отмечалось значительное снижение удельного объема растущих фолликулов до $10,0\pm 5,29$ (10,02; 1,62-23,82) ($p<0,001$). Данные изменения могут быть связаны, как с появлением атретических признаков в большом количестве фолликулов, так и с тем фактом, что атрезии подвергались по большей части крупные полостные фолликулы, имеющие большой объем. Удельный объем желтых тел соответствовал контрольным значениям ($p=0,804$, $p=0,2$).

К 10-м суткам удельный объем растущих фолликулов не изменялся ($p=0,518$) и составлял $10,93 \pm 6,61$ (12,15; 0,19-28,06), объем атретических фолликулов и тел при этом снижался ($p=0,001$) и достигал минимального, выявленного в ходе эксперимента, значения - $1,7 \pm 1,68$ (1,39; 0-6,76). Удельный объем желтых тел был выше, чем в контрольных группах ($p=0,001$, $p < 0,001$).

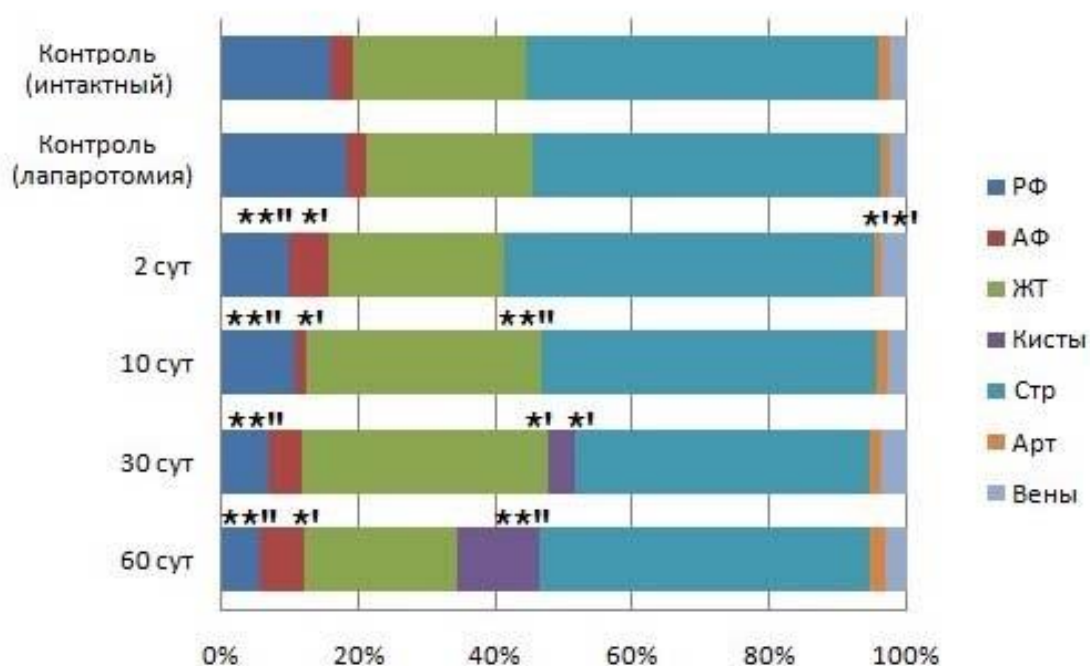


Рис. 19. Удельный объем структурных компонентов яичников белых крыс после сальпингэктомии, %.

Примечание: *РФ* – растущие и зрелые фолликулы; *АФ* – атретические фолликулы и тела; *ЖТ* – желтые тела; *Стр* - строма; *Арт* – артерии;

* - в сравнении с ложнооперированным контролем выявлены различия со значимостью $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$;

' - в сравнении с интактным контролем выявлены различия со значимостью $p < 0,05$; " - $p < 0,001$.

На 30-е сутки удельный объем растущих фолликулов снижался до $7,08 \pm 4,87$ (8,10; 0-24,82) ($p < 0,001$). На фоне двукратно сниженного объема растущих фолликулов, объем атретических фолликулов и тел повышался и достигал контрольных значений ($p = 0,271$, $p = 0,302$).

Между 30-ми и 60-ми сутками эксперимента удельный объем растущих фолликулов переставал изменяться ($p = 0,311$) и оставался сниженным, не достигая контрольных значений ($p < 0,001$, $p = 0,018$). Объем атретических фолликулов и тел продолжал расти, оказываясь выше такового в группах контроля ($p = 0,002$, $p = 0,003$). Таким образом, к концу эксперимента объем растущих фолликулов был почти в 3 раза ниже такового в контроле ($p = 0,002$, $p < 0,001$), объем атретических фолликулов и тел наоборот оказывался вдвое больше ($p = 0,002$, $p = 0,001$).

Начиная с 30-х суток эксперимента, в срезах яичников появлялись фолликулярные кисты и ретенционные полости, их удельный объем составил $3,66 \pm 5,23$ (0; 0-13,19). К 60-м суткам удельный объем кист значимо возрастал до $11,8 \pm 8,56$ (8,80; 0-26,76) ($p = 0,007$).

На рис. 20 представлена динамика удельных объемов стромальных компонентов яичников крыс основной группы. На 2-е сутки эксперимента регистрировалось увеличение удельного объема вен при сравнении с таковым в группах контроля ($p = 0,021$, $p = 0,046$) и значимое уменьшение удельного объема артерий ($p = 0,004$, $p = 0,014$). Данные изменения соответствуют картине гемодинамических нарушений, описанной на 2-е сутки опыта.

Объем веретенновидноклеточной стромы в течение эксперимента планомерно снижался, но при этом значения не выходили за пределы контрольных. Значимое снижение ($p = 0,037$) данного показателя регистрировалось со 2-х по 10-е сутки, что совпадает по времени с исчезновением гемодинамических нарушений и, вероятно, связано с уменьшением явлений экссудации.

Подсчет удельного объема коллагеновых волокон показал, что через двое суток после операции содержание коллагеновых волокон не различалось в исследуемой и контрольной группах ($p=0,351$). Максимальный объем коллагеновых волокон наблюдался на 10-е сутки после операции ($p<0,001$) и составлял $16,7\pm 4,46$ (16,40; 10,02-24,38). Затем отмечалось снижение данного показателя до $9,3\pm 4,3$ (9,8; 2,42-15,98) ($p<0,001$). После 30-х суток значимой динамики не было обнаружено ($p=0,137$).

Таким образом, после экспериментального удаления яйцеводов обнаруживалось общее снижение количества и удельного объема генеративных элементов. На ранних сроках эксперимента наблюдалось замедление как процессов роста, так и атрезии фолликулов, на поздних – атретические процессы достигали значений групп контроля, в то время как количество растущих и зрелых фолликулов оставалось сниженным в течение всего периода наблюдения.

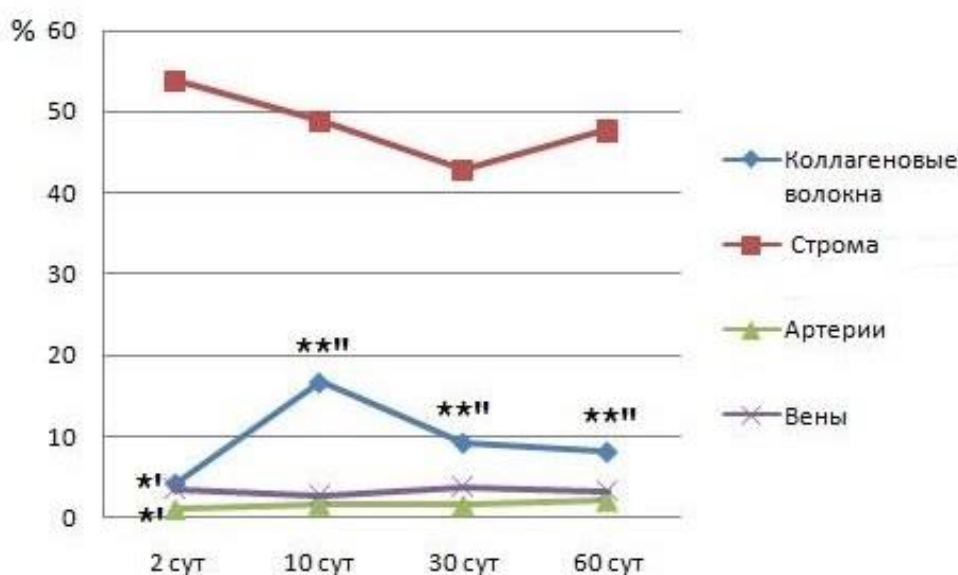


Рис. 20. Динамика удельных объемов стромы и сосудов яичников крыс после удаления яйцеводов, %.

*Примечание:** - в сравнении с ложнооперированным контролем выявлены различия со значимостью $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$; ‘ - в сравнении с интактным контролем выявлены различия со значимостью $p < 0,05$; “ - $p < 0,001$.

Удаление яйцеводов не влияло непосредственно на количество примордиальных фолликулов, однако, вероятно, приводило к нарушениям малого фолликулярного роста, что проявлялось стойким снижением количества первичных фолликулов. Динамика вторичных и третичных фолликулов и желтых тел была характерна для нормально протекающих процессов созревания фолликулов - увеличение количества вторичных фолликулов и желтых тел соответствовало снижению количества третичных фолликулов, и наоборот. Нарушение процессов роста фолликулов проявлялось формированием кист на поздних сроках эксперимента. Отмечалось усиление процессов коллагенообразования.

3.3. Результаты иммуногистохимического исследования яичников крыс после удаления яйцеводов

Иммуногистохимическое исследование проводилось в яичниках крыс основной и ложнооперированной контрольной группы. Экспрессия антимюллера гормона выявлялась в клетках фолликулярного эпителия первичных и вторичных фолликулов (рис. 21). Специфически окрашивалась цитоплазма и ядра фолликулярных клеток. В фолликулах с несколькими слоями гранулезных клеток максимальная экспрессия наблюдалась во внутренних, прилежащих к ооциту клетках.

Экспрессия выявлялась в эпителиоцитах некоторых примордиальных фолликулов, это может быть связано с началом перехода этих фолликулов в стадию роста, что проявлялось появлением новых паттернов экспрессии, но еще не сопровождалось морфологическими перестройками [Myers M. et al., 2009].

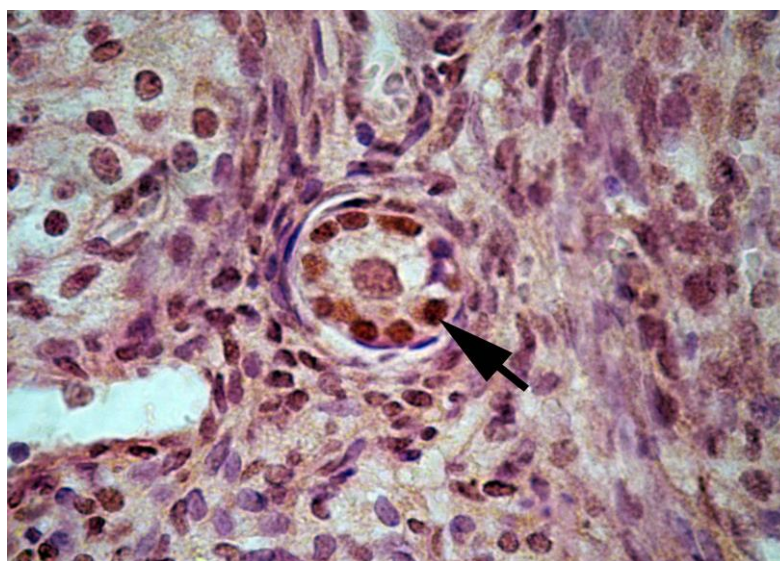


Рис. 21. Экспрессия АМГ в клетках фолликулярного эпителия первичного фолликула через 10 суток после удаления яйцеводов. Стрелка указывает на фолликулоцит с выраженной экспрессией. Окраска: DAB, докраска гематоксилином. Ув. x 1000.

Слабее окрашивались эпителиоциты третичных и атретических фолликулов. В атретических фолликулах наименее выраженное окрашивание наблюдалось в наружных слоях фолликулярной оболочки, клетки внутренних слоев и кумулюса демонстрировали более интенсивную экспрессию АМГ. Часто в атретических фолликулах наблюдалось мозаичное окрашивание клеток, при этом в одном слое эпителия выявлялись неокрашенные клетки и клетки с разной выраженностью степени окраски (рис. 22). Аналогичная картина наблюдалась и в фолликулярном эпителии некоторых фолликулов без морфологических признаков атрезии. В таблице 1 представлены результаты количественной оценки выраженности экспрессии АМГ в разных фолликулах. Методом статистического анализа в яичниках крыс контрольной группы не было выявлено значимой динамики, поэтому для сравнения показателей с основной группой используются усредненные значения.

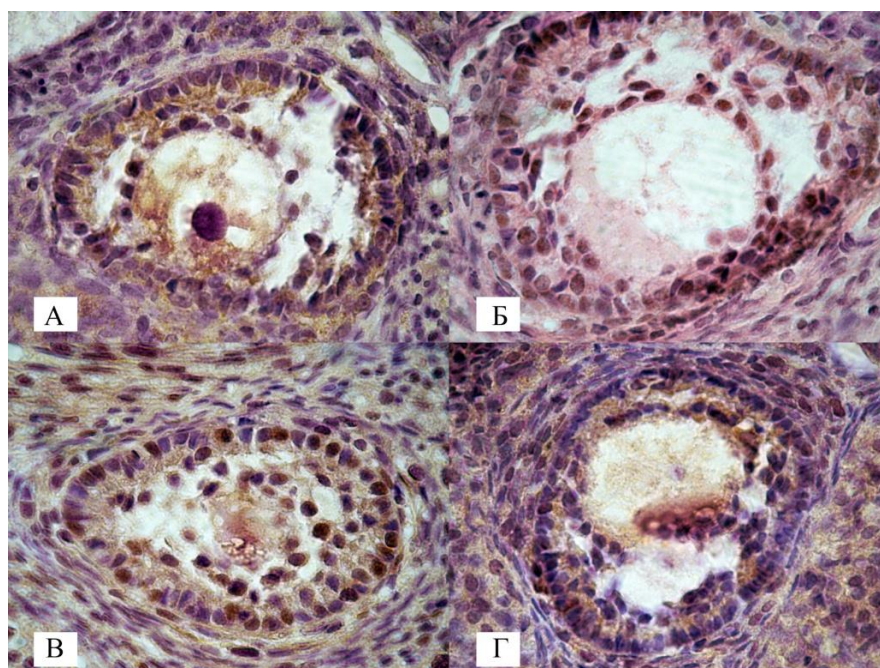


Рис. 22. Экспрессия АМГ в клетках фолликулярного эпителия атретических фолликулов. А – группа контроля; Б – через 10 суток после удаления яйцеводов; В - через 30 суток после удаления яйцеводов; Г - через 60 суток после удаления яйцеводов. Окраска: DAB, докраска гематоксилином. Ув. x 400

Табл. 1. Выраженность экспрессии АМГ фолликулярным эпителием различных видов фолликулов, Н-score (Me; Q₅-Q₉₅)

Серии эксперимента	Сроки опыта, сутки	Примордиальные фолликулы	Первичные фолликулы	Вторичные фолликулы	Третичные фолликулы	Атретические фолликулы
Контрольная группа (лапаротомия) (n=20)		50,00 (0-113,33)	114,29 (50,00-175,00)	100,00 (34,45-170,70)	32,99 (12,77- 45,13)	66,67 (20,54-167,41)
Основная группа (n=20)	2 сутки	29,17 16,67-65,18	40,00* 4,35-88,94	53,08* 17,24-55,41	63,71 17,97-126,02	38,04* 10,36-46,81
	10 сутки	25,00 (20,00-31,25)	76,58** (29,08-133,97)	41,41** (9,78-97,01)	37,10 (4,57-66,78)	30,74** (0-88,56)
	30 сутки	30,00 (0-100,00)	52,24** (12,91-99,17)	73,68** (0-93,33)	54,18 (26,24-76,67)	32,67* (0,49-99,63)
	60 сутки	30,00 (0,00- 66,67)	57,14** (11,76-86,14)	83,43 (32,82-125,28)	45,18 (38,46-51,31)	43,66* (0-64,95)

Примечание: ¹ Me – медиана; Q₅ и Q₉₅– 5- и 95 процентиля, соответственно;

*- в сравнении с группой контроля выявлены различия со значимостью p < 0,05; ** - p < 0,001

В контрольной группе наиболее выраженная экспрессия наблюдалась в фолликулярном эпителии первичных и вторичных фолликулов. Медианы значений 114,29 (50,00-175,00) и 100,00 (34,45-170,70) баллов соответствовали средней степени окраски клеток фолликулярного эпителия. Слабая окраска выявлялась в примордиальных, третичных и атретических фолликулах. В основной группе паттерн экспрессии сохранялся. При изучении динамики показателей экспрессии АМГ в яичниках крыс после удаления яйцеводов было обнаружено, что вариабельность экспрессии в ходе эксперимента была значимой только во вторичных фолликулах ($p < 0,001$). Примордиальные и третичные фолликулы в течение всего эксперимента демонстрировали низкий уровень экспрессии, соответствующий контрольным значениям ($p = 0,618$ и $p = 0,072$, соответственно). На 2-е сутки после удаления яйцеводов в яичниках экспериментальных животных наблюдалось снижение экспрессии АМГ в первичных, вторичных и атретических фолликулах ($p = 0,003$ для всех перечисленных показателей) (рис.23,24).

На 10-е сутки эксперимента уровень экспрессии в первичных фолликулах не значимо возрастал ($p = 0,079$), оставаясь при этом ниже такового в контрольной группе ($p < 0,001$). Одновременно с этим происходило незначимое снижение уровня экспрессии во вторичных и атретических фолликулах ($p = 0,241$ и $p = 0,159$, соответственно).

На 30-е сутки было зарегистрировано некоторое снижение экспрессии в первичных фолликулах ($p = 0,038$), экспрессия во вторичных фолликулах, наоборот, нарастала ($p = 0,028$). Экспрессия в атретических фолликулах оставалась сниженной ($p = 0,002$).

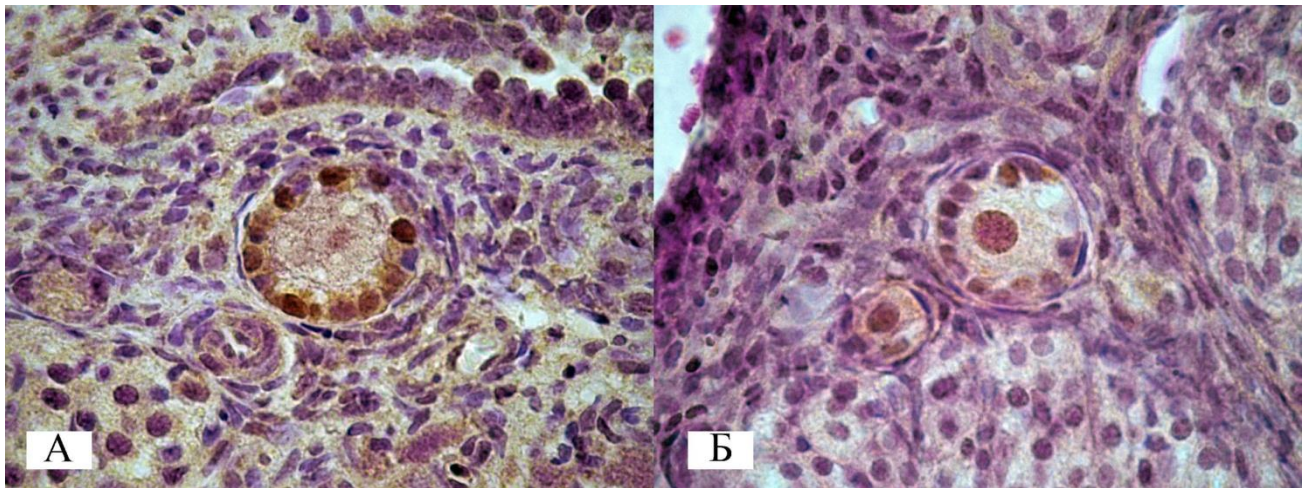


Рис. 23. Экспрессия АМГ в клетках фолликулярного эпителия первичных фолликулов. А – группа контроля; Б - через 2-е суток после удаления яйцеводов. Окраска: DAB, докраска гематоксилином. Ув. x 1000

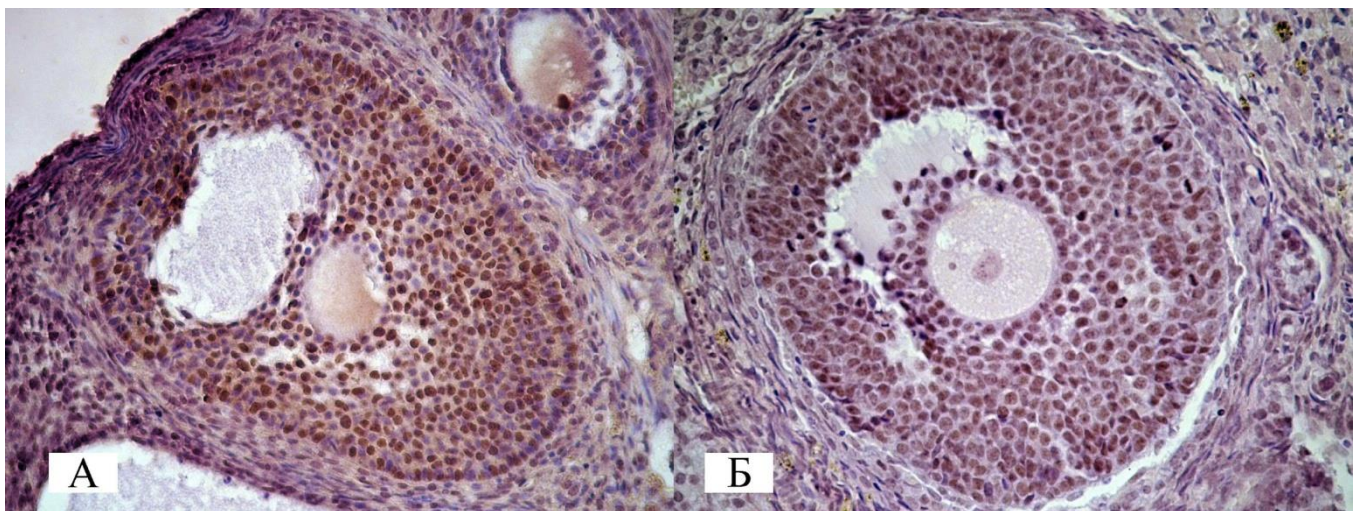


Рис. 24. Экспрессия АМГ в клетках фолликулярного эпителия вторичных фолликулов. А – группа контроля; Б - через 10 суток после удаления яйцеводов. Окраска: DAB, докраска гематоксилином. Ув. x 200

К концу эксперимента наблюдалось постепенное возрастание выраженности экспрессии АМГ в первичных, вторичных и атретических фолликулах, при этом в первичных и атретических экспрессия не достигала контрольных значений ($p < 0,001$ и $p = 0,001$, соответственно), тогда как во вторичных фолликулах достигал контрольных значений ($p = 0,064$).

При сопоставлении результатов иммуногистохимического, морфоколичественного и гистостереометрического исследований обращает на себя внимание тот факт, что снижение экспрессии АМГ фолликулярными клетками первичных и вторичных фолликулов совпадает с общим снижением количества генеративных элементов в срезе, а также уменьшением удельного объема растущих фолликулов. Снижение экспрессии АМГ расценивается нами как вероятный признак начала атрезии в фолликуле. В доступной литературе не встречается описание экспрессии АМГ в ходе атрезии фолликулов яичника, однако ранее было показано наличие обратной корреляции между выраженностью экспрессии АМГ и развитием атретических изменений в фолликуле [Durlinger A.L. et al., 2002]. Характерно то, что низкий уровень экспрессии АМГ и также её неоднородность наблюдались в том числе в эпителии фолликулов, не имевших морфологических признаков атрезии. Это наблюдение вероятно объясняется тем, что биохимические изменения в клетках гранулезы предшествуют морфологическим, в связи с чем фолликулы в начальной стадии атрезии были отнесены к классу растущих.

3.4. Концентрация маркеров овариального резерва в сыворотке крови крыс после удаления яйцеводов

Проводилось исследование сыворотки крови крыс основной и ложнооперированной контрольной группы. На 10-е сутки после удаления яйцеводов в сыворотке крови экспериментальных животных определялось двукратное снижение концентрации АМГ в сравнении с таковым в контроле

($p=0,004$). На 60-е сутки концентрация АМГ незначительно возростала, оставаясь тем не менее ниже контрольных значений ($p=0,004$).

Концентрация тестостерона к 10-м суткам эксперимента также оказывалась сниженной в 2 раза по сравнению с контрольным значением ($p=0,016$). Несмотря на некоторое повышение концентрации, показатель оставался сниженным на 60-е сутки после операции ($p=0,025$).

Концентрация ФСГ на 10-е сутки эксперимента значимо не отличалась от таковой в группе контроля ($p=0,061$). Но на 60-е сутки отмечалось повышение данного показателя со значимым превышением контрольных значений ($p=0,011$).

Корреляционный анализ не выявил статистически значимых взаимосвязей между исследуемыми показателями.

Таким образом, после удаления яйцеводов до 60-х суток послеоперационного периода у крыс определялось нарушение гормональной функции яичника, проявляющееся снижением продукции АМГ, тестостерона и повышением концентрации ФСГ.

Табл.2. Концентрация АМГ, ФСГ и тестостерона в сыворотке крови опытных животных (Me; Q₁-Q₃)

Исследуемый показатель	Удаление яйцеводов (n=20)		Контроль (лапаротомия) (n=20)
	10 сутки	60 сутки	
АМГ (нГ/мл)	2,74** (2,22-3,09)	2,82* (2,26- 3,03)	5,09 (4,95-5,47)
Тестостерон (нмоль/л)	1,73* (1,17-2,52)	2,07* (1,82- 2,59)	3,44 (2,54-3,92)
ФСГ (мМе/мл)	2,49 (2,19-2,62)	3,37* (2,92- 3,70)	2,77 (2,45-3,03)

Примечание: ¹ Me – медиана; Q₁ и Q₃– 25-й и 75-й процентиля соответственно;

- *- в сравнении с группой контроля выявлены различия со значимостью $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$

ГЛАВА 4 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

4.1. Клинико-лабораторная характеристика пациенток с бесплодием трубного генеза

Проведено ретроспективное исследование историй болезни 101 женщины репродуктивного возраста, находившихся на лечении по поводу бесплодия трубного генеза в гинекологической клинике ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России. Шестьдесят девять пациенток ранее перенесли оперативное удаление маточных труб.

Средний возраст пациенток составил 32 (28–36) года. По данным опроса и клинического обследования, у 26 (25,7%) пациенток была выявлена сопутствующая соматическая патология. Выявлялись хронические заболевания органов пищеварения – у 29,7%, органов дыхания – у 20,8%, патология щитовидной железы – у 13,9%, ожирение – у 3,9% пациенток. Пять пациенток (4,9%) перенесли аппендэктомию.

Средний возраст менархе составил 14 (11–16) лет. Продолжительность менструального цикла не выходила за пределы 24–38 дней у 94 (93,1%) пациенток и составляла в среднем 28 (21–34) дней. Продолжительность менструального кровотечения составляла от 2 до 7 дней, среднее значение – 5 (3–7) дней. Показатели менструального цикла у женщин основной группы и группы сравнения представлены в таблице 1, статистически значимых различий между группами не выявлено.

Табл. 1. Показатели менструальной функции у пациенток с бесплодием трубного генеза

Показатель менструальной функции	I. Основная группа (n=69)	II. Группа сравнения (n=32)	Уровень значимости различий, p
Возраст менархе (лет)	14 (11-16)	14 (11-15,65)	0,787
Длительность менструального цикла (дни)	28 (21-34)	28 (24,9-33,5)	0,091
Длительность менструации (дни)	5 (3-7)	4 (2,75-5)	0,945

Нарушения менструального цикла по типу хронических аномальных маточных кровотечений (АМК) наблюдались у 7 (6,9%) женщин, дисменорея – у 15 (14,8%), олигоменорея у двух (2,9%) пациенток. Статистический анализ не выявил значимых различий в частоте нарушений менструального цикла между группами (табл.2).

Табл. 2. Нарушения менструальной функции у пациенток с бесплодием трубного генеза

Нарушение менструального цикла	I. Основная группа (n=69)		II. Группа сравнения (n=32)		Х-квадрат Пирсона; уровень значимости различий, p
	Абс.	Отн.	Абс.	Отн.	
Дисменорея	14	20,3%	1	3,1%	1,350; 0,507
Хроническое АМК	7	10,1%	0	0%	1,122; 0,267
Олигоменорея	2	2,9%	1	3,1%	0,799; 0,371

При обращении в клинику пациентки предъявляли жалобы на отсутствие беременности при регулярной половой жизни без контрацепции. Длительность infertility составила в среднем 6 (1–15) лет и не различалась в исследуемых группах (p=0,182). Первичное бесплодие было выявлено в 13,6%, вторичное – в

86,4% случаев. В основной группе достоверно чаще диагностировалось вторичное бесплодие: в 85,5% случаев (59 женщин), тогда как в группе сравнения в 56,2% случаев (18 женщин) ($\chi^2 = 8,594$; $p=0,003$). Данные различия обусловлены дизайном исследования, т. к. ведущей причиной удаления маточных труб у пациенток была операция по поводу внематочной беременности, что приводило к закономерному повышению в основной группе количества женщин с хотя бы одной беременностью в анамнезе. Пациентки этой группы имели в анамнезе до 6 беременностей. Пациентки группы сравнения не имели в анамнезе внематочных беременностей, что соответствует критериям включения пациенток в данную группу. Репродуктивная функция была реализована у 24 (23,7%) пациенток: 20,3% - имели в анамнезе одни роды, 3,4% - двое родов. Артифициальный аборт в анамнезе отмечен у каждой третьей пациентки (30,4%). Акушерский анамнез женщин в исследуемых группах представлен в табл. 3.

Табл. 3. Количество и исходы беременностей у пациенток с бесплодием трубного генеза

Репродуктивная функция	I. Основная группа (n=69)		II. Группа сравнения (n=32)		Х-квадрат Пирсона; уровень значимости различий, p
	Абс.	Отн.	Абс.	Отн.	
Беременность	59	85,5%	18	56,2%	8,594; 0,003
Роды	16	23,1%	7	21,8%	1,132; 0,959
Артифициальные аборты	21	30,4%	12	37,5%	2,096; 0,375
Спонтанные аборты	13	18,8%	7	21,8%	1,984; 0,646
Внематочная беременность	44	63,8%	0	0	9,751; <0,001

Основную группу исследования составили 69 пациенток, перенёвших операцию по удалению маточных труб. Показанием для операции были: внематочная беременность у 44 пациенток (63,8%), хроническое воспаление

маточных труб перед планированием ВРТ – гидросальпингс, хронический облитерирующий сальпингит – у 24 пациенток (34,8%), одной пациентке была выполнена хирургическая стерилизация. Двум (2,9%) женщинам СЭ была выполнена по поводу рецидива внематочной беременности после реконструктивно-пластической операции маточной трубы. У 33 (47,8%) женщин была удалена одна труба, у 36 (52,2%) – обе трубы. У 6 (8,6%) пациенток одна труба была удалена, а на другой была выполнена органосохраняющая операция по поводу внематочной беременности. В среднем с момента операции прошло 3,5 (1–12,15) года. Операции были выполнены лапароскопическим доступом у 66 (95,6%) пациенток, лапаротомическим – у трёх (4,4%).

При бимануальном исследовании у всех пациенток матка имела нормальные размеры, подвижность и консистенцию, увеличения придатков и болезненности при пальпации не отмечалось, при осмотре в зеркалах на слизистой влагалища и шейки матки видимых патологических изменений не обнаруживалось.

При исследовании отделяемого влагалища и цервикального канала методом ПЦР возбудители ИППП не выявлялись у всех женщин. Представители условно-патогенной флоры были выявлены у 7 пациенток основной группы и двух пациенток группы сравнения (Табл. 4). При исследовании сыворотки крови методом ИФА IgG к вирусу краснухи выявлялись у 59,4% всех обследуемых, к цитомегаловирусу у 70,3%, к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов у 57,4%. Реже обнаруживались IgM к цитомегаловирусу, IgG к *Toxoplasma gondii*, *Mycoplasma hominis* и *Chlamydia trachomatis*. Показатели инфекционного статуса значимо не различались в исследуемых группах.

Табл.4. Инфекционный статус пациенток с бесплодием трубного генеза.

Показатель	I. Основная группа (n=69)		II. Группа сравнения (n=32)		Х-квадрат Пирсона; уровень значимости различий, p
	Абс.	Отн.	Абс.	Отн.	
ДНК Gardnerella vaginalis в отделяемом влагалища и цервикального канала	2	2,9%	0	0	0,903; 0,342
ДНК Ureaplasma urealyticum в отделяемом влагалища и цервикального канала	5	7,2%	2	6,2%	0,023; 0,880
IgG к вирусу краснухи	44	63,7%	16	50,0%	2,435; 0,119
IgM к цитомегаловирусу	2	2,9%	1	3,1%	0,011; 0,916
IgG к цитомегаловирусу	48	67,2%	23	71,8%	0,099; 0,753
IgG к Toxoplasma gondii	26	37,7%	12	37,5%	0,037; 0,848
IgG к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов	37	53,6%	21	65,6%	0,147; 0,702
IgG к Mycoplasma hominis	1	1,4%	0	0	0,364; 0,547
IgG к Chlamydia trachomatis	6	8,7%	3	9,3%	0,199; 0,656

Сочетанная гинекологическая патология выявлена в 34,1% случаев. Частота сочетанной патологии в основной группе и группе сравнения представлена в таблице 5.

Миома матки выявлялась при УЗИ и лечебно-диагностической лапароскопии у 6 (5,9%) пациенток. Во всех случаях она была представлена субсерозными и интрамуральными узлами малых размеров диаметром до двух см с бессимптомным течением. У одной пациентки из основной группы был выявлен порок развития, представленный седловидной маткой. Фиброзно-кистозная болезнь молочных желез была выявлена у 14 женщин (13,8%) по данным опроса, клинического обследования, УЗИ молочных желез и заключения маммолога.

Статистический анализ не выявил различий в частоте встречаемости данных нозологий в исследуемых группах. Генитальный эндометриоз и синдром поликистозных яичников согласно классификации ВОЗ являются факторами бесплодия, поэтому пациентки с данными патологиями не вошли в исследование в соответствии с критерием исключения «сочетанное бесплодие».

По данным гистероскопии и биопсии эндометрия, патология эндометрия встречалась в группах с одинаковой частотой. Хронический эндометрит гистологически был обнаружен в 14,1% случаев (14 женщин). У трёх женщин (2,9%) была выявлена доброкачественная эндометриальная гиперплазия.

Табл.5. Сочетанная патология репродуктивной системы у пациенток с бесплодием трубного генеза.

Нозология	I. Основная группа (n=69)		II. Группа сравнения (n=32)		Х-квадрат Пирсона; уровень значимости различий, p
	Абс.	Отн.	Абс.	Отн.	
Миома матки	3	4,3%	3	9,3%	2,161; 0,141
Хронический эндометрит	10	14,5%	4	12,5%	0,542; 0,462
Хронический сальпингит	6	8,7%	3	9,3%	0,036; 0,850
Доброкачественная эндометриальная гиперплазия	1	1,4%	2	6,2%	1,189; 0,063
Порок развития матки (седловидная матка)	1	1,4%	0	0	0,446; 0,504
Параовариальная киста	0	0	1	3,1%	2,273; 0,069
Спаечный процесс малого таза	10	14,5%	0	0	10, 524; 0,032
I степени	17	24,6%	0	0	
II степени	2	2,9%	1	3,1%	
III степени	2	2,9%	0	0	
IV степени					
Фиброзно-кистозная болезнь молочных желез	11	15,9%	3	9,3%	1,275; 0,259

При проведении лечебно-диагностической лапароскопии у 9 (8,9%) пациенток был установлен хронический сальпингит, у одной пациентки была диагностирована параовариальная киста. Спаечный процесс малого таза был выявлен у 31 пациентки основной группы, и только у одной пациентки группы сравнения. Чаще тяжесть спаечного процесса соответствовала лёгкой (14,5%) и средней (24,6%) степени. По результатам хромогидротубации нарушение проходимости маточных труб в виде полной либо частичной облитерации установлено у всех пациенток группы сравнения. Нарушение проходимости единственной маточной трубы диагностировано у двух женщин основной группы (3,1%).

Маркерами сниженного овариального резерва являются: концентрация ФСГ более 10 мМЕ/мл, концентрация АМГ менее 0,5 нг/мл, концентрация ингибина В менее 45 пг/мл, фолликулярный антральный счет (ФАС) менее 5 в обоих яичниках, суммарный объем яичников (V) менее 8 см³.

У женщин молодого репродуктивного возраста групп I и II медианные значения концентрации половых гормонов и маркеров овариального резерва не выходили за пределы референсных (табл. 6), но в сравнении с контрольной группой отмечались статистически значимые различия: более высокие концентрации гонадотропных гормонов гипофиза и снижение концентраций ингибина В и тестостерона как в основной, так и в группе сравнения. Концентрация ФСГ у женщин с бесплодием достоверно превышала таковую в группе контроля ($p < 0,001$, $p = 0,004$ для групп IA и IIA, соответственно), но не зависела от наличия в анамнезе СЭ ($p = 0,336$ для IA-IIA, $p = 0,240$ для IB-IBB). Концентрация эстрадиола оказывалась более высокой у женщин позднего репродуктивного возраста, однако различия были статистически не значимыми ($p = 0,722$ для IA-IB, $p = 0,452$ для IIA-IBB). Высокая концентрация эстрадиола, измеренная на 2-4 день цикла, у женщин старше 35 лет связана с укорочением фолликулярной фазы, которое является характерным признаком старения

репродуктивной системы [J.L. Fraterelli et al., 2000]. Концентрация ФСГ, соответствующая сниженному овариальному резерву, определялась в основной группе у 13,04% и 31,5% пациенток молодого и позднего репродуктивного возраста, соответственно, и у 11,8% и 25% пациенток группы сравнения. Значимых различий между группами тестом хи-квадрат не выявлено ($p=0,208$ – IA-IIA, $p=0,088$ – IB-IB).

Табл.6. Концентрация половых гормонов и маркеров овариального резерва у пациенток с бесплодием трубного генеза (Me; Q₅-Q₉₅)¹

Показатель	I. Основная группа		II. Группа сравнения		III. Контрольная группа
	А (n=50)	Б (n=19)	А (n=17)	Б (n=15)	А (n=15)
ФСГ, мМЕ/мл	6,31^{*oo} (2,55-17,38)	7,79* (5,67-12,63)	7,42^{oo} (2,89-8,48)	7,11 (4,40-9,70)	3,61 (2,10-5,30)
Эстрадиол, пмоль/л	213,13 (80,14-455,83)	258,49 (71,5-329,90)	155,4 (88,11-191,95)	207,57 (57,20-466,82)	226,00 (129,0-285,00)
ЛГ, мМЕ/мл	5,23^o (1,72-12,95)	5,17 (0,35-9,52)	5,80^o (1,70-7,74)	4,97 (2,83-6,79)	3,82 (2,44-4,80)
Тестостерон, нмоль/л	1,40^{oo} (0,19-4,56)	1,54 (0,65-1,88)	1,25^o (0,37-1,70)	0,66 (0,14-0,66)	3,10 (0,80-3,30)
Прогестерон нмоль/л	16,60 (1,18-82,24)	48,20 (5,08-79,75)	26,85 (1,30-64,95)	41,65 (18,70-41,65)	30,80 (10,60-45,00)
АМГ, нг/мл	3,28 (0,28-10,18)	1,65 (0,34-2,56)	3,16 (0,14-6,92)	2,41 (0,36-5,22)	3,21 (2,8-3,81)
Ингибин В, пг/мл	69,00^{oo} (10,41-115,93)	100,20 (9,40-111,70)	58,70^o (10,00-105,88)	82,10 (60,00-82,10)	126,00 (116,00-128,00)

Примечание: ¹ Me – медиана; Q₅ и Q₉₅– 5 и 95 процентиля соответственно;

- *- при сравнении с другой возрастной группой выявлены различия со значимостью $p < 0,05$;
- ° - при сравнении с группой контроля выявлены различия со значимостью $p < 0,05$; °° - $p < 0,001$.

У пациенток основной группы и группы сравнения позднего репродуктивного возраста отмечались более низкие значения АМГ, чем у пациенток молодого возраста, однако различия статистически не значимы ($p=0,312$ для IA-IB, $p=0,566$ для IIА-IIБ).

Наиболее выраженное снижение АМГ обнаруживалось у пациенток позднего репродуктивного возраста с СЭ в анамнезе. У 20% пациенток этой группы концентрация АМГ была менее 0,5 нг/мл (при этом в группе IA – у 9,6% пациенток, IIА – 7,1%, IIБ – 12,5%), однако медиана значений в данной группе составила 1,65 (0,34-2,56) нг/мл, что соответствует показателям нормального ОР. Выявлено значимое снижение ингибина В у женщин молодого репродуктивного возраста в сравнении с контролем ($p<0,001$ для основной группы и $p=0,025$ для группы сравнения). Наличие СЭ в анамнезе не влияло на концентрацию ингибина В у женщин обеих возрастных групп ($p=0,136$ для IA-IIА, $p=0,242$ для IB-IIБ).

Табл.7. Ультразвуковые показатели овариального резерва у пациенток с бесплодием трубного генеза (Me; Q₅-Q₉₅)¹

Показатель	I. Основная группа		II. Группа сравнения		III. Контрольная группа
	А (n=50)	Б (n=19)	А (n=17)	Б (n=15)	А (n=15)
Суммарный V яичников, см ³	13,05 (5,34-24,00)	9,50 (3,30-17,55)	17,30 (8,30-21,30)	12,70 (5,60-21,76)	12,00 (9,60-13,20)
ФАС	9,00*^{oo} (3,00-20,00)	5,00*^{oo} (2,00-8,00)	12,50 (5,00-16,50)	8,50 (3,00-12,75)	15,00 (7,00-18,00)

Примечание: ¹ Me – медиана; Q₅ и Q₉₅ – 5 и 95 перцентили соответственно;

● *- при сравнении с другой возрастной группой выявлены различия со значимостью $p < 0,05$;

● ° - при сравнении с группой контроля выявлены различия со значимостью $p < 0,05$.

Суммарный объем яичников не зависел от наличия в анамнезе СЭ ($p=0,033$ для IA–IIA и $p=0,055$ для IB–IIB при критическом значении $p=0,0085$), также не выявлено значимых различий при сравнении с группой контроля ($p=0,928$). В основной группе ФАС снижался к позднему репродуктивному возрасту ($p=0,03$) и был достоверно ниже, чем в группе контроля ($p<0,001$).

В основной группе снижение значений ультразвуковых маркеров ОР чаще встречались у женщин позднего репродуктивного возраста, чем у женщин молодого возраста ($p=0,02$ для объема яичников и $p<0,001$ для ФАС).

4.2. Характеристика программ ВРТ пациенток с бесплодием трубного генеза

Индукция суперовуляции проводилась по протоколам с антагонистами ГнРГ или агонистами ГнРГ. У большинства женщин (89,4%) стимуляция проводилась по короткому протоколу. В таблице 6 представлены показатели циклов ВРТ в исследуемых группах. Общая доза гонадотропинов за цикл значимо не различалась в основной группе и группе сравнения ($p=0,063$ для IA-IIA; $p=0,340$ для IB-IIIБ). У двух пациенток основной группы и одной пациентки группы сравнения рост фолликулов после стимуляции не наблюдался.

У пациенток с СЭ в анамнезе возраст оказывал влияние на количество фолликулов в стимулированном цикле ($p=0,015$), но не влиял на количество полученных ооцитов ($p=0,246$). Чувствительность яичников к стимуляции рассчитывалась как соотношение количества полученных фолликулов к дозе гонадотропинов. Статистический анализ продемонстрировал, что все пациентки независимо от возрастной группы и наличия СЭ в анамнезе имели одинаковую чувствительность яичников ($p=0,815$ для IA-IIA; $p=0,730$ для IB--IIIБ). «Бедный ответ» яичников на стимуляцию наблюдался у 11 пациенток перенесших СЭ, и у двух пациенток без операции в анамнезе, однако статистический анализ не показал значимых различий ни в одной из групп ($p=0,213$ для IA-IIA; $p=0,433$ для IB-IIIБ). Чрезмерный ответ проявлялся ростом более 20 фолликулов без синдрома гиперстимуляции яичников, и был выявлен у 5 пациенток молодого репродуктивного возраста. Количество и качество ооцитов и эмбрионов достоверно не различалось в зависимости от возрастных групп и наличия в анамнезе СЭ.

Табл.8. Показатели цикла ВРТ у пациенток с бесплодием трубного генеза

Показатель	I. Основная группа		II. Группа сравнения	
	А (n=50)	Б (n=19)	А (n=17)	Б (n=15)
Общая доза гонадотропинов, МЕ	1212,5 (532,50-2876,25)	1050,00 (675,00-1350,00)	1650,00 (750,00-2325,00)	1200,00 (600,00-3037,50)
Количество пунктируемых фолликулов, Ме (Q ₅ -Q ₉₅)	9,5* (1,55-27,15)	5,0* (1,0-9,0)	8,0 (5,0-15,0)	9,0 (2,0-15,0)
Чувствительность яичников к стимуляции	0,43 (0-1,37)	0,44 (0,08-0,52)	0,32 (0,09-0,63)	0,33 (0,07-0,63)
«Бедный ответ», абс. (отн.)	5 (10%)	6 (31,5%)	0	2 (13,3%)
Чрезмерный ответ, абс. (отн.)	3 (6%)	0	2 (13,3%)	0
Количество полученных ооцитов, Ме (Q ₅ -Q ₉₅)	6,00 (0,55-15,90)	5,00 (1,00-6,00)	6,00 (3,00-8,00)	6,00 (1,00-9,00)
Количество ооцитов в МП, Ме (Q ₅ -Q ₉₅)	4,00 (0-12,2)	3,00 (1,0-4,5)	4,00 (2,00-6,00)	2,00 (1,0-7,00)
Количество оплодотворенных ооцитов на количество ооцитов в МП	185/216 (85,6%)	36/54 (66,7%)	52/68 (76,4%)	54/72 (75%)
Количество эмбрионов на 3 сутки, Ме (Q ₅ -Q ₉₅)	3,0 (0-9,55)	2,0 (0-3,0)	3,0 (1,0-4,0)	2,0 (0-5,0)
Эмбрионы хорошего качества на 3 сутки, Ме (Q ₅ -Q ₉₅)	1,0 (0-4,55)	0 (0-1,0)	1,0 (0-1,0)	1,0 (0-4,5)
Количество эмбрионов на 5 сутки, Ме (Q ₅ -Q ₉₅)	0 (0-7,0)	0 (0-1,5)	0 (0-2,0)	0 (0-2,5)
Эмбрионы хорошего качества на 5 сутки, Ме (Q ₅ -Q ₉₅)	0 (0-2,6)	0 (0-1,0)	0	0

*- при сравнении с другой возрастной группой выявлены различия со значимостью $p < 0,05$

В группе пациенток с удаленными маточными трубами доля перенесенных эмбрионов и доля беременностей в программах ВРТ была значимо выше у женщин до 36 лет ($p=0,03$ и $p=0,016$, соответственно). Подобные результаты наблюдались в группе пациенток без операции – доля беременностей на начатый

цикл в молодом репродуктивном возрасте составила 52,9%, в позднем – 26,6% (p=0,008).

Показатели эффективности ВРТ у пациенток с бесплодием трубного генеза не зависели от наличия в анамнезе удаления маточных труб.

Табл. 9. Показатели эффективности программ ВРТ у пациенток с бесплодием трубного генеза.

Показатель	I. Основная группа		II. Группа сравнения	
	А (n=50)	Б (n=19)	А (n=50)	Б (n=19)
Перенос эмбрионов на начатый цикл	46/50* (92%)	12/19* (63,1%)	17/17 (100%)	13/15 (86,6%)
Беременность на начатый цикл	20/50* (40%)	6/19* (31,5%)	9/17* (52,9%)	4/15* (26,6%)
Беременность на перенос эмбрионов	20/46 (43%)	6/12 (50%)	9/17 (52,9%)	4/13 (30,7%)
Беременность, закончившаяся родами, на перенос эмбрионов	20/46 (43%)	4/12 (33,3%)	6/17 (35,2%)	4/13 (30,7%)

*- статистически значимое различие в зависимости от возрастной группы со значимостью $p < 0,05$.

Таким образом, установлено, что клиническая характеристика женщин после СЭ не отличается от таковой у женщин с не оперированными маточными трубами. Сывороточные и ультразвуковые маркеры ОР у женщин с бесплодием трубного генеза находятся в пределах референсных значений, но у пациенток молодого репродуктивного возраста концентрация ФСГ и ЛГ оказывается повышенной, а концентрация тестостерона и ингибина В – пониженной в сравнении с группой контроля. Концентрация АМГ, ФСГ, эстрадиола, ЛГ, ингибина В, тестостерона, прогестерона и суммарный объем яичников не зависят от наличия СЭ в анамнезе, вместе с тем у женщин молодого репродуктивного возраста с СЭ в анамнезе ФАС снижен в сравнении с группой контроля. Число женщин, имеющих критически сниженные показатели АМГ, ультразвуковые маркеры снижения ОР, выше в группах после СЭ, однако различия статистически

не значимы. Не было обнаружено различий в исходах программ ВРТ между женщинами с СЭ в анамнезе и без таковой.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что патология маточных труб сопровождается тенденцией к ухудшению состояния ОР, причем более выраженное негативное влияние оказывает СЭ, приводя к снижению ФАС, которого не наблюдается при облитерирующем сальпингите. Тем не менее, наблюдаемые изменения не ухудшают прогноз ВРТ у пациенток без других факторов риска снижения ОР.

ГЛАВА 5

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Понимание механизмов, регулирующих рост и развитие половой клетки, является ключевым вопросом репродуктивной биологии и медицины. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные фолликулогенезу, атрезии, овуляции и их регуляции посредством гормонов а также местных ауто- и паракринных факторов роста и специфических белков, до сих пор не сформирована гипотеза, детально описывающая процессы роста и созревания яйцеклетки в норме и при патологии. Это затрудняет описание патогенеза яичниковой недостаточности, возникающей под действием различных повреждающих факторов.

Негативные последствия хирургических операций в гинекологии стали объектом исследований еще с середины XX века. Накопившиеся сведения позволяют утверждать, что различные операции на репродуктивных органах затрагивают всю репродуктивную систему, вызывая в ней более или менее выраженные функциональные и морфологические изменения [Сикорская Н. В., 2003; Кадесникова Ю. А. и др., 2010; Кавтеладзе Е.В., 2014; Hayasaka S. et al., 2010; Asgari Z. et al., 2015]. СЭ приводит к разобщению анастомозов между яичниковой артерией и яичниковой ветвью маточной артерии, залегающих в брыжейке маточной трубы, приводя к изменению кровоснабжения яичника [Dietl J., Wischhusen J., 2014].

Оценка состояния яичника после удаления маточных труб проводилась в ряде экспериментальных и клинических исследований. В эксперименте исследовали морфологические изменения яичников, изменения гормональной продукции, развивающиеся у животных после пересечения или удаления яйцеводов, либо удаления яйцеводов и маточных рогов. В клинических исследованиях оценивались, как показатели функционального ОР вне программ преодоления бесплодия, так и эффективность ВРТ. Характерным для этой темы

является то, что при оценке практически любого аспекта состояния яичников после изолированной или симультанной СЭ в доступной литературе встречается большое количество противоречащих друг другу результатов. В ходе эксперимента на животных большинством исследователей после удаления яйцеводов регистрируются признаки развивающейся яичниковой недостаточности, нарушение кровоснабжения яичника, фолликулогенеза и овуляции [Ulug P., Oner G., 2014; Faramarzi A. et al., 2012, Kilic S. et al., 2008], в то время, как клинические исследования в большинстве не обнаруживают негативного влияния СЭ на функциональные показатели яичника и исходы программ ВРТ [da Silva A. L. B. et al., 2013; Morelli M. et al., 2013; Ni L. et al., 2013; Uyar I. et al., 2013; Venturella R. et al., 2015; Song T. et al., 2016; Sahin Ersoy G. et al., 2016]. Сопоставление результатов исследований, имеющих принципиально разные методологические подходы, затруднено; также оно усугубляется тем фактом, что они получены разными исследовательскими группами в разных странах. Экспериментальные и клинические результаты, полученные в рамках одного исследования, позволят более полно оценить влияние СЭ на яичники.

В экспериментальной части данного исследования изучались морфологические изменения, возникающие в яичниках крыс после удаления яйцеводов. На 2-е сутки после операции общее состояние экспериментальных животных, макроскопические изменения при аутопсии соответствуют типичной для послеоперационного периода картине асептического воспаления, сопровождающегося экссудацией, гиперемией, отеком вовлеченных органов.

Моделировался один из широко распространенных в гинекологической практике методов удаления маточных труб с использованием биполярной коагуляции для остановки кровотечения из сосудов мезосальпингса [Kalra G. S. et al., 2016]. С. С. W. Chan et al. (2003) показали, что лапароскопическая односторонняя СЭ влечет за собой снижение ФАС и ухудшение кровотока при

доплерографии в яичнике на оперированной стороне, тогда как после лапаротомической СЭ ухудшение показателей яичника не обнаруживаются. Авторы связывают данные различия с повреждающим действием электрокоагуляции при лапароскопической операции. Воздействие тепловой энергии при электрокоагуляции приводит не только к некротическим изменениям в области воздействия, но также к формированию обширной зоны перифокального воспаления превышающий в 2-3 раза площадь непосредственного воздействия [Адамян Л. В., Мынбаев О. А., 1999; Бухарина И. Ю., 2005]. Было доказано, что зона поражения прилежащих тканей маточной трубы напрямую зависит от её диаметра, и у человека при использовании мощности электрокоагулятора 40 Вт и среднем диаметре трубы 5,9 ($\pm 0,49$) см достигает 3,4 мм [Wallwiener C. W. et al., 2010]. При проведении электрокоагуляции на яйцеводах крыс мощность и длительность воздействия подбирались с учетом объема органа, типа ткани, и необходимой глубине воздействия в соответствии с рекомендациями производителя, что позволило снизить риск вовлечения тканей яичников в латеральное повреждающее действие хирургической энергии аналогично таковому при СЭ в клинической практике. Тем не менее, при гистологическом исследовании на 2-е сутки после операции в яичниках обнаруживались гемодинамические и воспалительные изменения. Причиной этих изменений, вероятно, является недостаточное кровоснабжение яичника, которое возникает после коагуляции яичниковой ветви маточной артерии. У крыс, как и у человека, в трети случаев наблюдается преобладание маточной артерии в кровоснабжении яичника, и выключение её из сосудистой системы органа ведет к выраженной редукции кровотока [Hebel R., Stromberg M. W., 1986]. Вследствие резкого снижения перфузии в тканях яичника наблюдается острая циркуляторная ишемия, которая, по данным литературы, сохраняется до трёх суток послеоперационного периода [Доброхотова Ю. Э., 2000]. В данном исследовании начиная с 10-х суток эксперимента в яичниках

крыс наблюдалось диффузное усиление процессов коллагенообразования и повышение удельного объема коллагеновых волокон в 5 раз в сравнении с таковым в предыдущий срок. Это является следствием общего снижения перфузии тканей, а не очагового, которое возникает при остром нарушении кровотока в отдельном сосуде вследствие стаза или тромбоза. Уменьшение удельного объема коллагеновых волокон и стромы на 30-е сутки вероятно обусловлено снижением выраженности гемодинамических нарушений и экссудативных процессов.

Неоднократно доказано, что ишемические и воспалительные процессы в яичниках приводят к нарушению фолликулогенеза, усиливают атретические процессы, нарушают продукцию стероидных гормонов [Тихоновская О. А., 2000; Бухарина И. Ю., 2003; Дмитриева М. Л., 2012; Tapisiz O. L. et al., 2008; Toyganözü H. et al., 2014]. Показано, что оксидативный стресс, развивающийся на фоне ишемии, является триггером апоптоза клеток гранулезы фолликула, с повреждения которых начинается атретический процесс в фолликуле [Murdoch W. J., 1998; Ortega-Camarillo C. et al., 2009; Shen M. et al., 2012]. В настоящем исследовании обращает на себя внимание общее снижение количества генеративных элементов в яичниках крыс после удаления яйцеводов.

На 2-е сутки после операции отмечалось небольшое увеличение количества растущих фолликулов. Наряду с этим снижалось количество атретических фолликулов и тел. Г. К. Вазиева (2005), Ю. А. Кадесникова (2010) показали, что повреждающие воздействия на яичники приводят к кратковременному включению компенсаторных механизмов, что проявляется усилением роста фолликулов в ранние сроки после воздействия повреждающих факторов. Парадоксальную реакцию фолликулярного аппарата после непосредственного травматического воздействия на яичники авторы исследований объясняют компенсаторным увеличением перфузии органа в ранние сроки после повреждающего воздействия. Аналогичные результаты получены и в настоящем

исследовании. При этом кратковременное увеличение количества растущих фолликулов происходило за счет вторичных и третичных, тогда как количество первичных фолликулов было значимо снижено уже в начальные сроки после операции. Можно предположить, что компенсаторное увеличение кровотока в ранние сроки происходило за счет неповрежденной яичниковой артерии. При этом в антральных фолликулах, уже имеющих собственную сосудистую сеть, активизировались процессы роста, что приводило к увеличению их количества. Рост фолликулов до стадии вторичных менее зависим от кровотока, а в большей степени регулируется внутрияичниковыми факторами [Fortune J. E., 2003], вероятно, поэтому их количество оказывалось сниженным.

Количество примордиальных фолликулов после удаления яйцеводов значимо не изменялось, признаки дегенерации ооцита в них не наблюдались. Данные наблюдения закономерны и согласуются с представлениями о так называемой «универсальной» реакции яичников на повреждение, целью которой является сохранение репродуктивного потенциала органа до момента прекращения воздействия повреждающего фактора [Боровая О.В., 1999].

Ослабление процессов атрезии, достигающее максимума на 10-е сутки послеоперационного периода, возможно, также является компенсаторной реакцией яичников на стрессовое воздействие. Высокая адаптивная способность яичников к воздействию повреждающих факторов, по мнению О.В. Боровой (1999), обусловлена слаженной взаимосвязью нейро-гуморальных и паракринных сигналов, регулирующих процессы фолликулогенеза и атрезии [Боровая О.В., 1999]. В настоящем исследовании наиболее выраженные признаки атрезии наблюдались в антральных фолликулах, тогда как первичные и вторичные преантральные фолликулы по большей части не демонстрировали дистрофических изменений в ооците и соматическом компоненте, что согласуется с данными литературы [Matsuda F. et al., 2012]. Данное наблюдение демонстрирует, что наиболее чувствительной к повреждающему воздействию

является популяция фолликулов в гормон-зависимой стадии когда происходит селекция доминантного фолликула и ключевую роль в фолликулогенезе играет сосудистое русло [Боровая О. В., 1999].

Несмотря на ослабление процессов атрезии в начальные сроки эксперимента, в течение всего периода наблюдения количество растущих фолликулов было сниженным в сравнении с таковым в группе контроля. Снижение количества растущих фолликулов неоднократно отмечалось другими авторами при ишемии гонад после гистерэктомии [Özdamar S., 2005; Tapisiz O. L. et al., 2008; Toyganözü H. et al.], после перевязки маточных труб [Faramarzi A. et al., 2012, Kilic S. et al., 2008] и СЭ [Ulug P., Oner G., 2014]. Несмотря на существование мнений об участии матки в гормональной регуляции фолликулогенеза [Tanaka O., 2012], большинство исследователей признают, что ключевую роль в патогенезе постгистерэктомического синдрома играет снижение овариального кровотока за счет исключения из него маточной артерии [Özdamar S., 2005; Tapisiz O. L. et al., 2008]. S. Özdamar et al. (2005) отмечают особенно выраженное снижение в генерации растущих фолликулов количества первичных фолликулов после гистерэктомии. Аналогичные результаты получены P. Ulug, G. Oner (2014) после удаления яйцеводов у крыс, что согласуется с результатами настоящего исследования. Механизмом снижения популяции растущих фолликулов, вероятно, является нарушение инициации покоящихся фолликулов и замедление темпов роста на фоне ишемического повреждения. S. Kilic et al. (2008), A. Faramarzi et al. (2012) показали, что перевязка маточных труб у крыс приводит к выраженной ишемии тканей яичника, сохраняющейся в течение 6 месяцев после операции.

Нарушение межтканевых и межклеточных взаимодействий первичного фолликула приводит к его атрезии либо отставанию от нормальных показателей на дальнейших гормон-зависимых этапах развития, что негативно сказывается на эндокринной функции яичника. Так, A. Faramarzi et al. (2012) в своем

исследовании обнаружили, что перевязка маточных труб вызывает выраженное снижение сывороточного эстрадиола в течение не менее 6 месяцев послеоперационного периода. Локальный дефицит эстрадиола в фолликуле приводит к активации проапоптотических факторов и запуску программы клеточной гибели [Rosenfeld C. S., 2001]. По аналогии с секрецией эстрадиола, при поражении гранулезной оболочки антральных фолликулов в них снижается секреция ингибина В [Hansen K. R. et al., 2005]. На этом фоне наблюдается нарушение роста антральных фолликулов, стабильность которых зависит от величины кровотока, гонадотропных и стероидных гормонов, а также факторов ауто-и паракринной регуляции, роль которых еще недостаточно изучена. Нарушение роста первичных фолликулов проявляется отставанием формирования региональной нейро-сосудистой сети фолликула и задержкой дифференцировки внутренней теки [Боровая О.В., 1999], которая является источником синтеза андрогенов. Локальный дефицит ингибина В также приводит к снижению ЛГ-опосредованного синтеза андрогенов в текальной оболочке [Millier S. G., 1994]. Андрогены играют ключевую роль в процессах малого роста фолликулов до стадии вторичного [Yang M. Y., Fortune J. E., 2006; Sen A., Hammes S. R., 2010]. Стойкое снижение продукции тестостерона, вероятно, приводит к еще большему замедлению темпов роста первичных фолликулов, формируя порочный круг. Введение дегидроэпиандростерона крысам, перенесшим удаление маточных рогов и яйцеводов, приводит к увеличению количества растущих фолликулов и более высокой концентрации АМГ в сравнении с таковыми у крыс, не получавших лечение после операции [Петров И. А. и др., 2015].

Снижение продукции стероидных гормонов в настоящем эксперименте также было отмечено при исследовании сыворотки крови опытных животных. Уровень тестостерона был снижен на 10-е и 60-е сутки послеоперационного периода. Повышение ФСГ, как косвенный признак гипоэстрогении, наблюдалось только к концу эксперимента. Таким образом, в яичнике после удаления

яйцеводов отмечается выраженное нарушение эндокринной функции. Доказана роль внеорганичного сосудистого комплекса яичника в ретроградной циркуляции стероидных гормонов [Krzyszowski T., 2012]. Синтезируемые в яичнике гормоны поступают в венозные и лимфатические сосуды, залегающие в брыжейке яичника и маточной трубы. Часть этих сосудов образует сплетение вокруг яичниковой артерии, обеспечивая обратное поступление гормонов во внутриорганичную сеть яичника путем проникновения молекул через стенки сосудов, имеющих общую адвентициальную оболочку [Del Campo C.H., 1974]. В яичник при этом возвращаются более активные не связанные формы стероидных гормонов, концентрация которых в системном кровотоке составляет только 1-2% от локального уровня. Повреждение кровеносных или лимфатических сосудов брыжейки может приводить к нарушению работы этой системы, вызывая нарушение стероидогенеза в яичнике.

Регуляция роста фолликулов до стадии малых антральных также осуществляется АМГ [Durlinger A. L. L. et al., 2002]. В настоящем исследовании при изучении экспрессии АМГ фолликулярными клетками эпителия в контрольной и основной группе обнаруживался типичный паттерн секреции – АМГ активно экспрессировался гранулезой первичных и вторичных преантральных и малых антральных фолликулов. Экспрессия также обнаруживалась в уплощенных фолликулярных эпителиоцитах, окружавших одним слоем ооциты, лежащие в поверхностных слоях коркового вещества. Данные структуры рассматривались, как примордиальные фолликулы, недавно вступившие в рост, с еще не сформированным типичным для первичного фолликула слоем кубического фолликулярного эпителия. Экспрессия АМГ снижалась по мере увеличения полости фолликула, а также по мере развития в нем атретических процессов, что согласуется с данными предыдущих исследований [Durlinger A. L. L. et al., 2002]. При этом часто в фолликулярном эпителии атретических фолликулов наблюдалось «мозаичное» окрашивание

клеток, что возможно связано с дисконкомплексацией фолликулярного эпителия, нарушению в нем межклеточных контактов и несогласованной продукцией биологически активных веществ. «Мозаичное» окрашивание иногда наблюдалось в клетках гранулезы фолликулов без видимых признаков атрезии, что согласуется с мнением О.В. Боровой (1999) о начале атретического процесса в фолликулярных клетках с ультраструктурного уровня.

АМГ ингибирует инициацию покоящихся фолликулов, что необходимо для предотвращения преждевременного истощения фолликулярного запаса [Nilsson E.E., 2011; Dumont A., 2015]. После удаления яйцеводов в яичниках экспериментальных животных нами выявлено снижение экспрессии АМГ фолликулярным эпителием первичных и вторичных фолликулов. Сниженная экспрессия АМГ способствует повышению чувствительности клеток гранулезы к ФСГ, следствием чего является ускорение роста первичных и вторичных фолликулов, а также инициации большего количества примордиальных фолликулов. АМГ оказывает тормозящее влияние на активность ароматазы фолликулярных клеток, приводя к изменению соотношения половых стероидов в фолликуле в пользу андрогенов. В то же время, выявлено снижение экспрессии АМГ и рецепторов к нему в клетках гранулезы под действием эстрадиола [Baarends W.M., 2004]. Таким образом, АМГ и эстрогены в фолликуле вызывают противоположные эффекты, и их продукция клетками гранулезы в ходе развития фолликула имеет отрицательную корреляцию [Dumont A., 2015]. J. Zhang et al. (2017) обнаружили снижение экспрессии АМГ в яичниках крыс с моделью ускоренного старения яичников, которая формировалась путем повторных стимуляций суперовуляции а также ингаляций озона, что приводило к усилению оксидативного стресса в ткани яичников. Вероятно, снижение экспрессии АМГ после удаления яйцеводов является частью комплексной реакции, возникающей в ответ на повреждающий стимул, и, возможно, имеет адаптивный характер.

В настоящем исследовании в начальные сроки после удаления яйцеводов отмечалось значимое снижение продукции АМГ клетками гранулезы первичных и вторичных фолликулов, в дальнейшем экспрессия усиливалась, и к 60-м суткам данный показатель во вторичных фолликулах достигал контрольного значения, а в первичных оставался сниженным. Снижение экспрессии в ранние сроки коррелировало с ослаблением процессов атрезии и усилением роста антральных фолликулов, что во всех случаях сопровождается активной продукцией эстрадиола, оказывающего антиапоптотический эффект на соматические клетки фолликула. Таким образом, можно говорить о состоятельности компенсаторной реакции яичников в ранние сроки после удаления яйцеводов.

Начиная с 10-х суток эксперимента наблюдалось прогрессивное увеличение экспрессии АМГ фолликулярным эпителием первичных и вторичных фолликулов, которое коррелировало со снижением количества растущих фолликулов. Можно предположить, что повреждающее воздействие операции приводило к неполноценности фолликулогенеза и стероидогенеза и, в итоге, к срыву компенсаторных механизмов и истощению фолликулярного аппарата в отдаленные сроки после операции. Патогенетическими факторами, приводящим к замедлению роста фолликулов, могли быть, как снижение перфузии яичника и хроническая ишемия, так и недостаточность субстрата для продукции стероидных гормонов вследствие нарушения их ретроградной циркуляции вследствие повреждения внеорганичного сосудистого комплекса яичника. В последнем случае, особенно выражено должен нарушаться синтез андрогенов, т.к. в ответ на снижение продукции эстрадиола, повышенная выработка ФСГ стимулирует активность ароматазы фолликулярных клеток, конвертируя все небольшое количество андрогенов в эстрогены.

При оценке преовуляторного роста фолликулов, овуляции и формирования желтого тела была выявлена корреляция между количеством вторичных, третичных фолликулов и желтых тел, характерная для нормально протекающих

овуляторных циклов. Выявлялись зрелые третичные фолликулы, свежие желтые тела. Таким образом, несмотря на угнетение роста и усиление атрезии овуляторная функция сохранялась. Кольпоцитологические исследования демонстрировали восстановление нормального эстрального цикла, начиная с 8-10-х суток эксперимента.

Тем не менее, в отдельных яичниках наблюдается формирование фолликулярных кист. По данным И. Б. Вовк и соавт. (1992), формирование фолликулярных кист происходит при нарушении гипоталамо-гипофизарной регуляции в третичном фолликуле и отсутствии овуляции, что ведет к персистенции фолликула, накоплению в нем фолликулярной жидкости и гибели ооцита. Снижение чувствительности третичного фолликула к гонадотропным стимулам связано с нарушением его развития на предыдущих этапах фолликулогенеза [Вовк И. Б. и соавт., 1992], что было подтверждено в ходе настоящего исследования. Характерно отсутствие лютеиновых кист, развитие которых связано не с нарушением процесса овуляции, а с нарушением лимфооттока и кровообращения в постовуляторном желтом теле [Гаспаров А.С. и соавт., 2013].

Удаление яйцеводов у крыс приводит к кратковременному ослаблению атретических процессов и активации роста вторичных и третичных фолликулов яичников в начальные сроки с последующим истощением фолликулярного аппарата, нарушением эндокринной функции гонад и формированием гипергонадотропного состояния вследствие вторичной яичниковой недостаточности.

В клинической части данной работы изучалось влияние СЭ и двусторонней окклюзии маточных труб на функциональные показатели ОР и эффективность программ ВРТ у пациенток молодого и позднего репродуктивного возраста в отдаленные сроки.

Доказано, что возраст является существенным фактором снижения ОР. У женщин старше 35 лет в яичниках наблюдаются фиброзные изменения, редукция фолликулярного аппарата [Щербина Н.А., 2013]. В настоящем исследовании большинство показателей ОР значимо не отличались в разных возрастных группах, вероятно, из-за того, что все женщины в исследовании имели патологию маточных труб, которая независимо от возраста оказывает влияние на ОР. Также вероятной причиной может быть неоднородность групп по таким показателям, как длительность бесплодия, время, прошедшее после операции, либо с момента установления непроходимости маточных труб, т.к. данные показатели не учитывались при формировании выборки.

У пациенток молодого возраста с трубным фактором бесплодия выявлялась повышенная концентрация ФСГ и ЛГ на фоне нормальной концентрации эстрадиола. Аналогичные результаты получены F. Qin et al., (2016), X. Ye et al. (2015), T. A. Gelbaya et al. (2016). Изолированное измерение ЛГ не позволяет судить о состоянии яичника и не является маркером ОР, поэтому в литературе отсутствуют данные о влиянии СЭ на концентрацию ЛГ. При формировании гипергонадотропного состояния отмечается одновременное повышение ФСГ и ЛГ, что позволяет в настоящем исследовании оценивать эти показатели, как маркеры одного и того же процесса. Мета-анализ M. Fan и L. Ma (2016), включающий 25 исследований и 1939 пациенток, продемонстрировал увеличение базальной концентрации ФСГ у женщин в отдаленном периоде после СЭ. Одновременное повышение концентраций ФСГ и эстрадиола J. L. Frattarelli et al. (2000) обнаружили у пациенток с бесплодием в возрасте старше 35 лет. Данные изменения авторы объясняют укорочением фолликулярной фазы менструального цикла, что приводит к более быстрому подъему концентрации эстрадиола в ранней фолликулярной фазе, и является признаком возрастных изменений репродуктивной системы. Было доказано, что эстрадиол не является надежным маркером ОР [Broekmans F. J. et al., 2006], а повышенные уровни эстрадиола

могут маскировать повышение ФСГ [Evers J. L. H. et al., 1998]. У женщин молодого репродуктивного возраста концентрация ФСГ в диапазоне 10-11 МЕ/мл имеет ограниченное значения для прогнозирования исхода ВРТ и не может служить единственным маркером ОР [Esposito M. A., Coutifaris C., Barnhart K. T., 2002]. В настоящем исследовании концентрации ФСГ и ЛГ повышались в сравнении с контрольным значением, но оставались в пределах нормальных значений ОР, так что изменения, выявленные после СЭ у женщин в отдаленные сроки, можно обозначить, как тенденцию к развитию гипергонадотропного состояния. В то же время в большом количестве исследований не обнаруживаются изменения концентрации ФСГ после СЭ [Xi W. et al., 2012; Ercan C. M. et al., 2013; Findley A. D. et al., 2013; Uyar I. et al., 2013; Rustamov O. et al., 2016].

По механизму отрицательной обратной связи у пациенток с трубным бесплодием и повышенной концентрацией ФСГ, концентрация ингибина В была снижена. Аналогичные изменения были выявлены М. А. Atalay et al. (2016) через 6 месяцев у пациентов с гистероскопией и двусторонней симультанной СЭ. Повышение ФСГ, снижение ингибина В и нормальный уровень эстрадиола в раннюю фолликулярную фазу - признак репродуктивного старения, причем изменение соотношения ФСГ / ингибин В носит приспособительный характер для сохранения секреции эстрадиола на должном уровне [Hansen K. R. et al., 2005]. Механизм подъема ФСГ не изучен, однако предполагают, что первичным звеном является снижение продукции ингибина В гранулезными клетками преантральных и антральных фолликулов [Santoro N., Adel T., Skurnick J. H., 1999].

В настоящем исследовании в отдаленные сроки после СЭ средняя концентрация АМГ в сыворотке крови пациенток была несколько ниже таковой в группе контроля, но различия были статистически не значимы. Аналогичные результаты демонстрируют большинство исследований, имеющих в доступной

литературе [da Silva A. L. B. et al., 2013; Morelli M. et al., 2013; Ni L. et al., 2013; Uyar I. et al., 2013; Venturella R. et al., 2015; Song T. et al., 2016; Sahin Ersoy G. et al., 2016]. В ретроспективном исследовании, проведенном X. Ye et al. (2015) у пациенток, перенесших одно- и двустороннюю СЭ отмечались значимо более низкие концентрации АМГ в сравнении с таковым у пациенток без операции на трубах в анамнезе, преимущественно с мужским фактором бесплодия в паре. Несмотря на то, что АМГ известен, как гормон, снижающийся с возрастом, в этом исследовании была описана положительная корреляция между концентрацией АМГ и временем, прошедшим с момента операции, которая наблюдалась только у пациенток после односторонней СЭ. Данное наблюдение, вероятно, описывает механизм восстановления поврежденной функции яичника. Аналогичная тенденция не была обнаружена в группе с двусторонней СЭ, это позволило авторам сделать вывод, что только после одностороннего удаления маточной трубы компенсаторные механизмы (авторы полагают, что это усиление кровоснабжения за счет яичниковой артерии) оказываются эффективными для восстановления функции яичников до исходных значений. В настоящем исследовании в основную группу вошли пациентки как с односторонней, так и с двусторонней СЭ, что вероятно, является причиной лучших показателей ОР. Среднее время с момента операции составило 3,5 (1–12,15) года, тогда как в исследовании X. Ye et al. (2015) среднее время не указано, что не позволяет сравнить этот параметр. Учитывая результаты экспериментальной части настоящего исследования, можно предположить, что СЭ вызывает снижение АМГ, длящееся в течение не менее 12 менструальных циклов, что приблизительно соответствует 60 суткам у крысы, и 1 году у человека. В проспективном исследовании T. Song et al. (2016) обнаружили, что гистерэктомия с сочетанной СЭ вызывает снижение АМГ на 18,6% через 3 месяца после операции в сравнении с исходным уровнем, в то время как изолированная

гистерэктомия снижает АМГ на 10,4%, однако статистический анализ не выявил значимых различий при сравнении групп.

У женщин с трубным бесплодием молодого репродуктивного возраста наблюдалась сниженная в сравнении с контрольным значением концентрация тестостерона в сыворотке крови. Положительная корреляция концентраций тестостерона и АМГ в сыворотке крови ранее выявлялась у женщин с СПКЯ [Piltonen T. et al., 2005], хроническими АМК [Laven J. S. E. et al., 2004]. Аналогичные результаты получены в эксперименте на крысах [Zhang Y. et al., 2016]. Наряду с этим в другом экспериментальном исследовании выявляется ингибирующее действие тестостерона на выработку АМГ клетками гранулезы преантральных фолликулов в яичниках коров [Crisosto N. et al., 2009]. Противоречащие результаты предыдущих исследований демонстрируют, что роль тестостерона в фолликулогенезе еще не изучена до конца. Использование этого показателя не рекомендовано для оценки ОР и прогноза исходов ВРТ [Fişicioğlu C. et al., 2006], тем не менее, в настоящем исследовании снижение концентраций тестостерона в комплексе с другими наблюдаемыми изменениями свидетельствует о нарушении эндокринной функции яичника.

В отдаленном периоде после СЭ у пациенток наблюдалась неполноценность гормон-зависимой фазы фолликулогенеза, что проявлялось не только изменением гормонального статуса, но и значимым снижением ФАС. A. Lass et al. (1998) и R. Orvieto et al. (2011) продемонстрировали снижение ФАС в яичнике поврежденной стороны после односторонней СЭ. M. Morelli et al. (2013) и O. Rustamov et al. (2016) не обнаружили снижение общего ФАС в группе после двусторонней СЭ и в смешанной группе после одно- и двусторонней СЭ. Время прошедшее с момента операции указано только в исследовании M. Morelli et al. (2013) (3 месяца), что затрудняет оценку причин, вызвавших различия в результатах исследования. M. Noventa et al. (2016) полагают, что снижение ФАС

при односторонней СЭ компенсируется яичником неповрежденной стороны, и таким образом не происходит значимого снижения общего ФАС.

При сравнении показателей ОР пациенток с удаленными трубами и с окклюзией труб, снижение ФАС в группе после СЭ было единственным различием. L. Ni et al. (2013), сравнив концентрации АМГ и исходы ВРТ у женщин после СЭ и с облитерацией маточных труб, не выявили значимых различий. Нарушение эндокринной функции яичников при хроническом облитерирующем сальпингите объясняется патологической нервной импульсацией в структуры головного мозга и нарушением гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси [Забелкина О. И., 2005]. Практически одинаковый характер изменений в обеих группах настоящего исследования наводит на мысль об общем патогенезе яичниковой недостаточности при любом повреждении маточных труб. Однако, в доступной литературе практически отсутствуют исследования, которые могли бы подтвердить или опровергнуть эту гипотезу. В. С. Tarlatzis и L. Zepiridis (2003) утверждают, что перенесенное гнойное заболевание маточных труб может приводить к нарушению кровоснабжения яичника и снижению ОР, но неизвестно, имеет ли аналогичный эффект хронический обструктивный процесс без гнойных осложнений.

Необходимо отметить, что заключения исследователей о негативном влиянии СЭ на овариальный резерв, в основном относились к двусторонней СЭ [Ye X. et al. 2015; Qin F. et al., 2016; Fan M. и Ma L., 2016], тогда как отсутствие негативного влияния часто обнаруживалось в смешанных группах, либо в группах с односторонней СЭ [Xi W. et al., 2012; Uyar I. et al., 2013; Rustamov O. et al., 2016; Sahin Ersoy G. et al., 2016]. Проведя мета-анализ, M. Fan и L. Ma (2016) пришли к выводу, что односторонняя СЭ в сравнении с двусторонней, имеет менее выраженное повреждающее действие и, вероятно, не приводит к значимому угнетению общего ОР. Ранее нами была проведена оценка состояния ОР у женщин, вошедших в данное исследование, в зависимости от перенесенного

одно- или двустороннего удаления маточных труб. Двусторонняя СЭ приводила к более выраженным снижению концентрации АМГ и повышению концентрации ФСГ, однако различия были статистически незначимы [Куприянова И.И. и соавт., 2016].

Сравнение исходов ВРТ между пациентками с удаленными трубами и с окклюзией труб не выявило значимых различий в ходе стимуляции суперовуляции, получения и культивирования эмбрионов и в эффективности ВРТ. Аналогичные результаты получили A. Lasset al. (1998), B. Almog et al. (2011), L. Ni et al. (2013), A. G. A. Grynnerup, A. Lindhard, S. Sørensen (2013), O. Rustamov et al. (2016). Практически во всех исследованиях, включая настоящее, эффективность ВРТ у пациенток после СЭ сравнивается с таковой у пациенток с другой патологией маточных труб (пластические операции, хроническое воспаление). Учитывая, что показатели ОР этих пациенток практически одинаковы, то и исходы ВРТ закономерно оказываются неразличимы. Проспективные исследования [Almog B. et al., 2011; Orvieto R. et al., 2011] также не обнаруживают различий в эффективности ВРТ до и после СЭ, выполненной по поводу гидросальпинкса, однако гидросальпинкс, вероятно, сам по себе может являться причиной снижения ОР. J. Tal et al. (2002), W. Xi et al. (2012) не обнаружили различия в ходе стимуляции овуляции и культивирования эмбрионов между пациентками, перенесшими СЭ по поводу внематочной беременности, и пациентками с мужским фактором бесплодия в паре. Сохранение эффективности ВРТ, несмотря на наблюдаемую тенденцию к снижению ОР, вероятно, можно объяснить действием компенсаторных механизмов гонад. Известно, что яичники обладают высокой адаптивной способностью действию эндогенных и экзогенных факторов за счет сохранения популяции здоровых примордиальных фолликулов, и ослабления процессов атрезии [Волкова О.В., Боровая Т.Г., 1999], что было показано в экспериментальной части данной работы. Не исключается роль компенсаторного усиления кровотока за счет сохранной яичниковой артерии,

обеспечивающего достаточную перфузию органа и создание необходимых условий для фолликулогенеза [X. Ye at al., 2015].

Таким образом, несмотря на некоторое снижение показателей ОР, перенесенная СЭ не ухудшает эффективность ВРТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На экспериментальной модели изучено морфофункциональное состояние яичников после удаления яйцеводов. Исследование показало, что в послеоперационном периоде наблюдается угнетение роста фолликулов на всех стадиях развития, в ранние сроки обнаруживаются гемодинамические нарушения, с последующим развитием фиброза коркового и мозгового вещества. В начальные сроки наблюдается нарушение малого роста фолликулов, при этом адаптивная реакция яичников проявляется активацией гормон-чувствительного и гормон-зависимого роста и снижением активности атретических процессов. В дальнейшем активность атретических процессов возрастает, а нарушения наблюдаются также на последующих этапах фолликулярного развития. Неполноценность фолликулогенеза проявляется прогрессирующим уменьшением количества растущих фолликулов, нарушением эндокринной функции яичника. Наблюдается снижение продукции стероидных гормонов и формирование гипергонадотропной яичниковой недостаточности к концу периода наблюдения.

Наблюдаемое снижение экспрессии АМГ клетками гранулезы первичных и вторичных фолликулов вероятно является вторичным по отношению к измененной продукции стероидных гормонов, происходящей вследствие отставания развития соматических компонентов фолликула и фолликулярного окружения. Снижение экспрессии АМГ предположительно играет роль в поддержании достаточного количества фолликулов на фоне действия повреждающего фактора.

При оценке функциональных показателей ОР у пациенток в отдаленные сроки после СЭ выявлена тенденция к формированию гипергонадотропного состояния и яичниковой недостаточности. Повышение в сыворотке крови концентрации ФСГ, снижение концентраций ингибина В, тестостерона, снижение ФАС на фоне нормальных значений АМГ, вероятно, свидетельствуют о нарушении гормон-зависимых стадий роста фолликулов. У пациенток

перенесших одно- и двустороннюю СЭ эффективность ВРТ не отличается от таковой у пациенток с двусторонней окклюзией маточных труб. Адекватный ответ яичников на стимуляцию экзогенными гормонами, хорошее качество полученных ооцитов с большой вероятностью свидетельствуют о сохранности внутрияичниковых механизмов регуляции и высокой способности к адаптации тканевых элементов яичника у человека.

При сравнении результатов экспериментального и клинического исследования можно предположить, что удаление маточных труб приводит к замедлению всех фаз фолликулогенеза, нарушению эндокринной функции яичников и формированию яичниковой недостаточности в течение, по меньшей мере, одного года. В отдаленные сроки после операции наблюдается восстановление процессов малого роста фолликулов, регулирующихся ауто- и паракринными факторами яичника, в то время как рост антральных, преобладающих и доминантных фолликулов оказывается компрометирован.

Возможный механизм повреждающего действия СЭ на яичники - снижение перфузии за счет исключения из кровоснабжения яичниковой ветви маточной артерии и развитие ишемии в тканях. Также не исключается роль повреждения внеорганичного сосудистого комплекса, залегающего в брыжейке яичника и маточной трубы, и обеспечивающего достаточную концентрацию половых гормонов в тканях гонад. Предполагается, что выраженность снижения ОР варьирует у разных пациенток в зависимости от индивидуальных особенностей расположения анастомозов и преобладания той или иной артерии в кровоснабжении яичника. Адекватный ответ яичников на стимуляцию экзогенными гормонами, хорошее качество полученных ооцитов позволяют сделать предположение о сохранности внутриорганичных механизмов регуляции и высокой способности к адаптации тканевых элементов яичника у человека.

ВЫВОДЫ

1. Удаление яйцеводов приводит к нарушению гемодинамики, ишемии и разрастанию соединительной ткани в яичниках экспериментальных животных, что сопровождается усилением процессов атрезии с последующим снижением количества генеративных элементов.
2. После удаления яйцеводов в фолликулярном эпителии первичных, вторичных и атретических фолликулов яичников экспериментальных животных наблюдается снижение экспрессии антимюллерового гормона, что коррелирует с усилением атретических процессов.
3. Удаление яйцеводов вызывает снижение концентрации антимюллерового гормона и тестостерона в сыворотке крови экспериментальных животных, формирование гипергонадотропного состояния, что свидетельствует о вторичной яичниковой недостаточности.
4. После сальпингэктомии в отдаленные сроки у женщин раннего репродуктивного возраста наблюдаются отдельные признаки снижения овариального резерва – повышение концентрации ФСГ на 74,3%, снижение концентрации ингибина В на 54,7% в сыворотке крови, снижение фолликулярного антрального счета на 40%.
5. Сальпингэктомия не снижает эффективность вспомогательных репродуктивных технологий у женщин с бесплодием трубного генеза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Решение о проведении профилактической сальпингэктомии должно иметь персонализированный характер и приниматься с учетом возраста пациентки, её репродуктивных планов и оценки овариального резерва: определения концентрации ФСГ и антимюллерового гормона в сыворотке крови и оценки фолликулярного антрального счета при УЗИ органов малого таза на 2-й – 3-й день менструального цикла.
2. Профилактическая сальпингэктомия не показана пациенткам с нереализованной репродуктивной функцией без повышенного риска развития II патогенетического варианта рака яичника.
3. Профилактическая сальпингэктомия не показана пациенткам при окклюзии в истмическом и интрамуральном отделах маточных труб при подготовке к экстракорпоральному оплодотворению.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста

АМГ – антимюллеров гормон

АМК - аномальные маточные кровотечения

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ГнРГ – гонадотропин-релизинг гормон

ОР – овариальный резерв

СибГМУ - Сибирский государственный медицинский университет

СЭ – сальпингэктомия

ТФР-β – трансформирующие факторы роста-β

ЛГ - лютеинизирующий гормон

УЗИ ОМТ – ультразвуковое исследование органов малого таза

ФАС – фолликулярный антральный счет

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Адамян, Л. В., Мынбаев О. А. Принципы применения электрохирургии в эндоскопии (лапароскопии и гистероскопии). Эндоскопия в гинекологии / Под ред. В.И. Кулакова и Л.В. Адамян // Москва. – 1999. – С. 168-175.
2. Белоус, С.В. Состояние яичников после лапароскопических операций, вызванное электрокоагуляцией / Белоус, С.В., Мясникова, А. Д., Лазарева, Г. А. //Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. 14. – №. 1. – С. 98-99.
3. Боярский, К. Ю. Факторы, определяющие овариальный резерв женщины / Боярский, К. Ю., Гайдуков, С. Н., Чинчаладзе, А. С. //Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. 58. – №. 2. – С. 65-71.
4. Бухарина, И. Ю. Экспериментально-клиническое обоснование использования комплекса диквертина и аскорбиновой кислоты при монополярной коагуляции яичников / Бухарина, И. Ю., Тихоновская, О. А., Плотников, М. Б. и др. //Бюллетень сибирской медицины. – 2003. – №. 2. – С. 26-35.
5. Бухарина, И. Ю. Морфофункциональные изменения придатков матки при монополярной коагуляции и их коррекция антиоксидантным комплексом: дис. канд. мед. наук: 14.01.01 / Бухарина Ирина Юрьевна; ГОУ СПО СибГМУ. – Томск. - 2005. –181 с.
6. Вазиева, Г. К. Морфологические изменения яичников и яйцеводов при наложении швов и влияние на них экстракта иловой сульфидной грязи [Текст]: (эксперим. исслед.): автореф. дис. канд. мед. наук: 03.00.25 /Вазиева Гульшат Каримовна; ГОУ СПО СибГМУ. - Томск, 2004. - 20 с.
7. Гаспаров, А.С. Онкогинекологические аспекты кистозных образований яичников / Гаспаров, А. С., Жордания, К. И., Паяниди, Ю. Г. и др. //Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. Т. 68. - № 8. - С. 9-13.

8. Доброхотова, Ю. Э. Психоэмоциональный и гормональный статус женщин после гистерэктомии без придатков / Доброхотова, Ю. Э. //Рос. мед. журн. – 2000. – №. 4. – С. 25-28.
9. Забелкина О. И. Состояние эндометрия и результат ЭКО у больных с трубно-перитонеальным бесплодием [Текст]: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.01 / Забелкина Ольга Игоревна; ГУ НИИ АГиР им. Д.О. Отта. - СПб. – 2005. – 20 с.
10. Зенкина, В. Г. Современные представления об интраорганный регуляции фолликулогенеза в яичнике / Зенкина, В. Г., Солодкова, О. А., Погукай, О. Н. и др. //Совр. пробл. наук. образов. – 2012. – Т. 2. www.science-education.ru
11. Кавтеладзе, Е.В. Морфофункциональное состояние яичников при эндометриозе до и после органосохраняющих операций [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук (14.01.01) / Кавтеладзе Елена Варламовна; РНИМУ им Н.И. Пирогова. — Москва. 2014. —26 с.
12. Кадесникова, Ю. А. Роль препарата, содержащего индол-3-карбол, в комплексном лечении кист яичников / Кадесникова, Ю. А., Петров, И. А., Окорочков, А. О. и др. //Сибирский медицинский журнал. – 2008. – Т. 23. – №. 4-1. – С. 80-82.
13. Кадесникова, Ю.А. Состояние овариального резерва пациенток с функциональными кистами яичников после лапароскопической цистэктомии / Кадесникова, Ю. А., Тихоновская, О. А., Петров, И. А. и др. //Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Т. 25. – №. 4-2.
14. Калашникова, С. Н. Варианты кровоснабжения яичников женщин зрелого возраста в зависимости от соматотипа / Калашникова, С. Н., Жарова Н. В. //Український морфологічний альманах. – 2010. – №. 8, № 1. – С. 36-38.
15. Кузьмин А.В. Результаты контролируемой стимуляции овуляции после сальпингэктомии и функциональной хирургии гидросальпинксов / Кузьмин А.В.,

Линде В.А. // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2013. - № 3 (45). – С. 66-68.

16. Куприянова, И.И. Влияние сальпингэктомии на овариальный резерв. / Куприянова, И.И., Петров, И.А., Тихоновская, О.А. и др. // Материалы IX Регионального научно-образовательного форума «Мать и дитя», Сочи, 23-30 июня 2016 г. / гл. редактор Г.Т. Сухих М., 2016. – 209 с.

17. Логвинов, С. В. Влияние асковертина на морфофункциональные изменения яичников при монополярной коагуляции / Логвинов, С. В., Плотников, М. Б., Тихоновская, О. А. и др. //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 135. – №. 4. – С. 471-475.

18. Мишиева, Н. Г. Оценка овариального резерва у женщин репродуктивного возраста и его значение в прогнозировании успеха лечения бесплодия / Мишиева, Н. Г., Назаренко, Т. А., Краснопольская, К. В. и др. //Проблемы репродукции. – 2008. – №. 4. – С. 62-65.

19. Назаренко, Т. А. Индукция моно-и суперовуляции: оценка овариального резерва, ультразвуковой и гормональный мониторинг / Назаренко, Т. А., Смирнова, А. А. //Проблемы репродукции. – 2004. – Т. 10. – №. 1. – С. 39-43.

20. Овлащенко Е.И. и др. О влиянии методов хирургического гемостаза на состояние овариального резерва у больных с геморрагической формой апоплексии яичника / Овлащенко, Е.И., Киселев, С.В., Яроцкая, Е.Б., //Проблемы репродукции. – 2013. – Т. 1. – С. 48-51.

21. Окороков А.О. Морфологическое состояние яичников крыс после монополярной коагуляции кистозных образований и применения полиоксидония / Окороков, А. О., Тихоновская, О. А., Петрова, М. С. и др. //Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Т. 25. – №. 4-2. – С.144-146.

22. Петров И. А. и др. Механизмы вторичной недостаточности яичников при операциях на органах малого таза (экспериментальное исследование) /

- Петров, И. А., Тихоновская, О. А., Куприянова, И. И. и др. //Акушерство, гинекология и репродукция. – 2015. – Т. 9. – №. 4. – С. 6-17.
23. Петров, И. А. Морфология яичников после электрокоагуляции функциональных кист / Петров, И. А., Тихоновская, О.А., Петрова, М.С. и др. //Морфология. – 2008. – Т. 133. – №. 2. – С. 105-106.
24. Петров И. А. Репродуктивное здоровье женщин с функциональными кистами яичников до и после лапароскопических цистэктомий / Петров, И. А., Огороков, А. О., Петрина, Ю. В. и др. //Сибирский медицинский журнал. – 2008. – Т. 23. – №. 4-1. – С.36-38.
25. Попов А. А. Современный взгляд на профилактическую тубэктомию / Попов, А. А., Слободянюк, Б. А., Коваль, А. А. и др. //Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – №. 2 (151). – С. 122-128.
26. Сикорская, Н. В. Морфофункциональное состояние яичников после различных операций на маточных трубах по поводу внематочной беременности [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук: 14.01.01 / Сикорская Наталия Владимировна; РГМУ. - Москва, 2003. – 24 с.
27. Сирота, И.В. Роль тубэктомии в развитии синдрома яичниковой недостаточности у женщин позднего репродуктивного периода, перенесших субтотальную гистерэктомию [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук: 14.01.01. / Сирота Ирина Владимировна; ГОУДПО "Казанская государственная медицинская академия". – Казань, 2008. - 34 с.
28. Тихоновская, О. А. Экспериментально-клиническое обоснование метода лечения острых воспалительных заболеваний придатков матки с использованием электрофореза препарата лечебной грязи / Тихоновская О. А., Евтушенко И. Д., Логвинов С. В. //Вопр. курортологии, физиотерапии и лечебной физ. культуры. – 2000. – №. 4. – С. 31-34.
29. Тихоновская О. А. Влияние рапы и экстракта грязи озера Карачи на морфофункциональное состояние придатков матки при экспериментальном

воспалении / Тихоновская О. А., Логвинов С. В. //Вопр. курортологии. – 1998. – №. 5. – С. 16-23.

30. Ускова М.Н. Эффективность вспомогательных репродуктивных технологий у женщин, перенесших оперативные вмешательства на маточных трубах [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук (14.01.01) / Ускова Мария Александровна; НЦАГиП им. В.И. Кулакова. – Москва, 2010. 20 с.

31. Фаннуш, Р. Эффективность стимуляции суперовуляции в программах ВРТ у женщин с предшествующими оперативными вмешательствами на придатках матки / Фаннуш Р., Бабенко О.М. //Медико-социальные проблемы семьи. - 2013. - Т. 18. № 1. С. 51-54.

32. Щербина, Н.А. Оценка возрастных изменений овариального резерва у женщин с бесплодием / Н.А. Щербина, О.Г. Градиль // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 2, ч. 2 (62). – С. 140-144.

33. Abe, H. Lymphatic involvement in the disappearance of steroidogenic cells from the corpus luteum during luteolysis / Abe, H., Omar Al-zi'abi, M., Sekizawa, F. et al. //PloS one. – 2014. – V. 9. – №. 2. – P. e88953.

34. Agarwal, A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction / Agarwal A., Saleh R. A., Bedaiwy M. A. //Fertility and sterility. – 2003. – V. 79. – №. 4. – P. 829-843.

35. Alborzi, S. A comparison of follicular response of ovaries to ovulation induction after laparoscopic ovarian cystectomy or fenestration and coagulation versus normal ovaries in patients with endometrioma / Alborzi, S., Ravanbakhsh, R., Parsanezhad, M. E. et al. //Fertility and sterility. – 2007. – V. 88. – №. 2. – P. 507-509.

36. Alitalo, K. The lymphatic vasculature in disease / Alitalo, K. //Nature medicine. – 2011. – V. 17. – №. 11. – P. 1371-1380.

37. Almog, B. Effects of salpingectomy on ovarian response in controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization: a reappraisal / Almog, B., Wagman, I., Bibi, G. et al. //Fertility and sterility. – 2011. – V. 95. – №. 8. – P. 2474-2476.

38. Asgari, Z. Comparing ovarian reserve after laparoscopic excision of endometriotic cysts and hemostasis achieved either by bipolar coagulation or suturing: a randomized clinical trial / Asgari, Z., Rouholamin, S., Hosseini, R. et al. //Archives of gynecology and obstetrics. – 2016. – V. 293. – №. 5. – P. 1015-1022.
39. Atalay, M. A. Change in the ovarian environment after hysterectomy with bilateral salpingectomy: is it the technique or surgery itself? / Atalay M. A., Demir B. C., Ozerkan K. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2016. – V. 204. – P. 57-61.
40. Aygen, E. M. Ovarian morphology of rats after fallopian tube sterilization / Aygen, E. M., Özdamar, S., Serin, S. et al. //Contraception. – 2002. – V. 66. – №. 3. – P. 211-214.
41. Baarends, W. M. Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth / Baarends, W. M., Uilenbroek, J. T., Kramer, P. et al. //Endocrinology. – 1995. – V. 136. – №. 11. – P. 4951-4962.
42. Bakacak, M. Protective Effect of Platelet Rich Plasma on Experimental Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Ovary / Bakacak, M., Bostanci, M. S., İnanc, F. et al. //Gynecologic and obstetric investigation. – 2015. – V. 81. – №. 3. – P. 225-231.
43. Baker, T. G. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries / Baker T. G. //Proceedings of the royal society of London. Series b, biological sciences. – 1963. – P. 417-433.
44. Bancsi, L. F. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve / Bancsi, L. F., Broekmans, F. J., Eijkemans, M. J. et al. //Fertility and sterility. – 2002. – V. 77. – №. 2. – P. 328-336.

45. Barboni, B. Vascular endothelial growth factor production in growing pig antral follicles / Barboni, B., Turriani, M., Galeati, G. et al. //Biology of Reproduction. – 2000. – V. 63. – №. 3. – P. 858-864.
46. Barmat, L. I. Are cytokines and growth factors responsible for the detrimental effects of hydrosalpingeal fluid on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer? / Barmat, L. I., Nasti, K., Yang, X. et al. //Fertility and sterility. – 1999. – V. 72. – №. 6. – P. 1110-1112.
47. Barroso, G. Vascular endothelial growth factor, nitric oxide, and leptin follicular fluid levels correlate negatively with embryo quality in IVF patients / Barroso, G., Barrionuevo, M., Rao, P. et al. //Fertility and sterility. – 1999. – V. 72. – №. 6. – P. 1024-1026.
48. Bhattacharya, S. A comparison of bladder and ovarian function two years following hysterectomy or endometrial ablation / Bhattacharya, S., Mollison, J., Pinion, S. et al. //BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. – 1996. – V. 103. – №. 9. – P. 898-903.
49. Bir, S. C. Angiogenic properties of sustained release platelet-rich plasma: characterization in-vitro and in the ischemic hind limb of the mouse / Bir, S. C., Esaki, J., Marui, A. et al. //Journal of Vascular Surgery. – 2009. – V. 50. – №. 4. – P. 870-879.
50. Block, E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women / Block, E. //Cells Tissues Organs. – 1952. – V. 14. – №. 1-2. – P. 108-123.
51. Bowen, S. Simple tools for assessment of ovarian reserve (OR): individual ovarian dimensions are reliable predictors of OR / Bowen, S., Norian, J., Santoro, N. et al. //Fertility and sterility. – 2007. – V. 88. – №. 2. – P. 390-395.
52. Broekmans, F. J. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome / Broekmans, F. J., Kwee, J., Hendriks, D. J. et al. //Human reproduction update. – 2006. – V. 12. – №. 6. – P. 685-718.

53. Broekmans, F. J. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization / Broekmans, F. J., de Ziegler, D., Howles, C. M. et al. //Fertility and sterility. – 2010. – V. 94. – №. 3. – P. 1044-1051.
54. Broekmans, F. J. Testing for ovarian reserve in assisted reproduction programs: the current point of view / Broekmans, F. J. //F, V & V in ObGyn. – 2009. – V. 1. – P. 79-87.
55. Brown, H. M. Development and hormonal regulation of the ovarian lymphatic vasculature / Brown H. M., Robker, R. L., Russell, D. L. //Endocrinology. – 2010. – V. 151. – №. 11. – P. 5446-5455.
56. Brown, H. M. Blood and lymphatic vasculature in the ovary: development, function and disease / Brown, H. M., Russell, D. L. //Human reproduction update. – 2014. – V. 20. – №. 1. – P. 29-39.
57. Camus, E. Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: a meta-analysis of published comparative studies / Camus, E., Poncelet, C., Goffinet, F. et al. //Human Reproduction. – 1999. – V. 14. – №. 5. – P. 1243-1249.
58. Carlsson, I. B. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro / Carlsson, I. B., Scott, J. E., Visser, J. A. et al. //Human reproduction. – 2006. – V. 21. – №. 9. – P. 2223-2227.
59. Carpintero, N. L. Follicular steroid hormones as markers of oocyte quality and oocyte development potential / Carpintero, N. L., Suárez, O. A., Mangas, C. C. et al. //Journal of human reproductive sciences. – 2014. – V. 7. – №. 3. – P. 187.
60. Casañ, E. M. Human Oviductal Gonadotropin-Releasing Hormone: Possible Implications in Fertilization, Early Embryonic Development, and Implantation 1 / Casañ, E. M., Raga, F., Bonilla-Musoles, F. et al. //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2000. – V. 85. – №. 4. – P. 1377-1381.

61. Cattanach, J. F. Post-tubal sterilization problems correlated with ovarian steroidogenesis / Cattanach, J. F., Milne, B. J. // *Contraception*. – 1988. – V. 38. – №. 5. – P. 541-550.
62. Chalmers, C. Does hysterectomy in a premenopausal woman affect ovarian function? / Chalmers, C. // *Medical hypotheses*. – 1996. – V. 46. – №. 6. – P. 573-575.
63. Chan, C. C. W. Impaired ovarian blood flow and reduced antral follicle count following laparoscopic salpingectomy for ectopic pregnancy / Chan, C. C. W., Ng, E. H. Y., Li, C. F. et al. // *Human reproduction*. – 2003. – V. 18. – №. 10. – P. 2175-2180.
64. Chang, M. Y. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies / Chang, M. Y., Chiang, C. H., Soong, Y. K. et al. // *Fertility and sterility*. – 1998. – V. 69. – №. 3. – P. 505-510.
65. Chen M. J. The effect of androgens on ovarian follicle maturation: Dihydrotestosterone suppress FSH-stimulated granulosa cell proliferation by upregulating PPAR γ -dependent PTEN expression / Chen, M. J., Chou, C. H., Chen, S. U. et al. // *Scientific Reports*. – 2015. – V. 5. – P. 18319-18319.
66. Christensen, A. Hormonal regulation of female reproduction / Christensen, A., Bentley, G. E., Cabrera, R. et al. // *Hormone and metabolic research*. – 2012. – V. 44. – №. 08. – P. 587-591.
67. Christianson, M. S. Measurement of antral follicle count in patients undergoing in vitro fertilization treatment: results of a worldwide web-based survey / Christianson, M. S., Shoham, G., Tobler, K. J. et al. // *Journal of assisted reproduction and genetics*. – 2015. – V. 32. – №. 10. – P. 1435-1440.
68. Clausen, I. Conservative versus radical surgery for tubal pregnancy: a review / Clausen, I. // *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. – 1996. – V. 75. – №. 1. – P. 8-12.
69. Clement, P. B. Anatomy and histology of the ovary / Clement, P. B. // *Blaustein's pathology of the female genital tract*. – Springer New York, 1987. – P. 438-470.

70. Cooper G. S. FSH levels in relation to hysterectomy and to unilateral oophorectomy / Cooper, G. S., Thorp, Jr J. M. //Obstetrics & Gynecology. – 1999. – V. 94. – №. 6. – P. 969-972.
71. Corson, S. L. Inhibin-B as a test of ovarian reserve for infertile women / Corson, S. L., Gutmann, J., Batzer, F. R. et al. //Human Reproduction. – 1999. – V. 14. – №. 11. – P. 2818-2821.
72. Crisosto N. Testosterone-induced downregulation of anti-Müllerian hormone expression in granulosa cells from small bovine follicles / Crisosto, N., Sir-Petermann, T., Greiner, M. et al. //Endocrine. – 2009. – V. 36. – №. 2. – P. 339-345.
73. da Silva, A. L. B. Impact of tubal ligation on ovarian reserve as measured by anti-Müllerian hormone levels: a prospective cohort study / da Silva, A. L. B., da Ré, C., Dietrich, C. et al. //Contraception. – 2013. – V. 88. – №. 6. – P. 700-705.
74. Dar, P. Ovarian function before and after salpingectomy in artificial reproductive technology patients / Dar, P., Sachs, G. S., Strassburger, D. et al. //Human Reproduction. – 2000. – V. 15. – №. 1. – P. 142-144.
75. de Vet, A. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging / de Vet, A., Laven, J. S., de Jong, F. H. et al. //Fertility and sterility. – 2002. – V. 77. – №. 2. – P. 357-362.
76. Deb, S. et al. Intracycle variation in number of antral follicles stratified by size and in endocrine markers of ovarian reserve in women with normal ovulatory menstrual cycles / Deb, S., Campbell, B. K., Clewes, J. S. et al. //Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. – 2013. – V. 41. – №. 2. – P. 216-222.
77. Dietl, J. The postreproductive salpingectomy / Dietl J., Wischhusen J. //Fertility and sterility. – 2014. – V. 101. – №. 3. – P. 20.
78. Dokuyucu, R. Antioxidant effect of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia–reperfusion injury / Dokuyucu, R., Karateke, A., Gokce, H. et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2014. – V. 183. – P. 23-27.

79. Doll, D. C. Vascular toxicity associated with antineoplastic agents / Doll, D. C., Ringenberg, Q. S., Yarbrow, J. W. //Journal of Clinical Oncology. – 1986. – V. 4. – №. 9. – P. 1405-1417.
80. Donnez, J. Large ovarian endometriomas / Donnez, J., Nisolle, M., Gillet, N. //Human Reproduction. – 1996. – V. 11. – №. 3. – P. 641-645.
81. Dubuisson, J. B. Salpingectomy-the laparoscopic surgical choice for ectopic pregnancy / Dubuisson, J. B., Morice, P., Chapron, C. et al. //Human reproduction. – 1996. – V. 11. – №. 6. – P. 1199-1203.
82. Dumont, A. Role of Anti-Müllerian Hormone in pathophysiology, diagnosis and treatment of Polycystic Ovary Syndrome: a review / Dumont, A., Robin, G., Catteau-Jonard, S. //Reproductive Biology and Endocrinology. – 2015. – V. 13. – №. 1. – P. 1.
83. Durlinger, A. L. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary / Durlinger, A. L., Gruijters, M. J., Kramer, P. et al. //Endocrinology. – 2002. – V. 143. – №. 3. – P. 1076-1084.
84. Durlinger, A. L. Control of Primordial Follicle Recruitment by Anti-Müllerian Hormone in the Mouse Ovary / Durlinger, A. L., Kramer, P., Karels, B. et al. //Endocrinology. – 1999. – V. 140. – №. 12. – P. 5789-5796.
85. Dwarakanath, L.S. Persistent ectopic pregnancy following conservative surgery for tubal pregnancy / Dwarakanath, L. S., Mascarenhas, L., Penketh, R. J. A. et al. // Br. J. Obstet. Gynecol. - 1996. - №103. - P. 1021–1024.
86. Ercan, C. M. Ovarian reserve testing before and after laparoscopic tubal bipolar electrodesiccation and transection / Ercan, C. M., Sakinci, M., Coksuer, H. et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2013. – V. 166. – №. 1. – P. 56-60.
87. Erickson, B. K. The role of the fallopian tube in the origin of ovarian cancer / Erickson B. K., Conner M. G., Landen C. N. //American journal of obstetrics and gynecology. – 2013. – V. 209. – №. 5. – P. 409-414.

88. Eser, A. Effects of curcumin on ovarian ischemia-reperfusion injury in a rat model / Eser, A., Hizli, D., Haltas, H. et al. //Biomedical reports. – 2015. – V. 3. – №. 6. – P. 807-813.
89. Esposito, M. A. A moderately elevated day 3 FSH concentration has limited predictive value, especially in younger women / Esposito, M. A., Coutifaris, C., Barnhart, K. T. //Human Reproduction. – 2002. – V. 17. – №. 1. – P. 118-123.
90. Evers, J. L. Elevated levels of basal estradiol-17 β predict poor response in patients with normal basal levels of follicle-stimulating hormone undergoing in vitro fertilization / Evers, J. L., Slaats, P., Land, J. A. et al. //Fertility and sterility. – 1998. – V. 69. – №. 6. – P. 1010-1014.
91. Faddy, M. J. Physiology: A mathematical model of follicle dynamics in the human ovary / Faddy, M. J., Gosden, R. G. //Human Reproduction. – 1995. – V. 10. – №. 4. – P. 770-775.
92. Fagundes, M. L. Hormonal assessment of women submitted to tubal ligation / Fagundes, M. L., Mendes, M. C., Patta, M. C. et al. //Contraception. – 2005. – V. 71. – №. 4. – P. 309-314.
93. Fan, M. Effect of salpingectomy on ovarian response to hyperstimulation during in vitro fertilization: a meta-analysis / Fan, M., Ma, L. //Fertility and sterility. – 2016.
94. Fanchin, R. Dynamics of serum anti-Müllerian hormone levels during the luteal phase of controlled ovarian hyperstimulation / Fanchin, R., Lozano, D. H. M., Louafi, N. et al. //Human Reproduction. – 2005. – V. 20. – №. 3. – P. 747-751.
95. Faramarzi, A. Prooxidant-antioxidant balance and malondialdehyde over time in adult rats after tubal sterilization and vasectomy / Faramarzi, A., Seifi, B., Sadeghipour, H. R. et al. //Clinical and experimental reproductive medicine. – 2012. – V. 39. – №. 2. – P. 81-86.
96. Farquhar, C. M. The association of hysterectomy and menopause: a prospective cohort study / Farquhar, C. M., Sadler, L., Harvey, S. A. et al. //BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. – 2005. – V. 112. – №. 7. – P. 956-962.

97. Fedele, L. Bipolar electrocoagulation versus suture of solitary ovary after laparoscopic excision of ovarian endometriomas / Fedele, L., Bianchi, S., Zanconato, G. et al. //The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists. – 2004. – V. 11. – №. 3. – P. 344-347.
98. Feyereisen, E. Anti-Müllerian hormone: clinical insights into a promising biomarker of ovarian follicular status / Feyereisen, E., Lozano, D. H. M., Taieb, J. et al. //Reproductive biomedicine online. – 2006. – V. 12. – №. 6. – P. 695-703.
99. Fiçicioğlu C. Early follicular antimüllerian hormone as an indicator of ovarian reserve / Fiçicioğlu, C., Kutlu, T., Baglam, E. et al. //Fertility and sterility. – 2006. – V. 85. – №. 3. – P. 592-596.
100. Findley, A. D. Short-term effects of salpingectomy during laparoscopic hysterectomy on ovarian reserve: a pilot randomized controlled trial / Findley, A. D., Siedhoff, M. T., Hobbs, K. A. et al. //Fertility and sterility. – 2013. – V. 100. – №. 6. – P. 1704-1708
101. Fraser, H. M. Regulation of the ovarian follicular vasculature / Fraser, H. M. //Reproductive Biology and Endocrinology. – 2006. – V. 4. – №. 1. – P. 18.
102. Fraser, H. M. Vascular morphogenesis in the primate ovary / Fraser, H. M., Duncan, W. C. //Angiogenesis. – 2005. – V. 8. – №. 2. – P. 101-116.
103. Frattarelli, J. L. Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles / Frattarelli, J. L., Lauria-Costab, D. F., Miller, B. T. et al. //Fertility and sterility. – 2000. – V. 74. – №. 3. – P. 512-517.
104. Frattarelli, J. L. Evaluation of basal estradiol levels in assisted reproductive technology cycles / Frattarelli, J. L., Bergh, P. A., Drews, M. R. et al. //Fertility and sterility. – 2000. – V. 74. – №. 3. – P. 518-524.
105. Garde, S. V. et al. Occurrence and de novo biosynthesis of follicle stimulating hormone (FSH) in benign and malignant conditions of human breast / Garde, S. V., Sheth, A. R., Joseph, R. et al. //Cancer letters. – 1993. – V. 75. – №. 1. – P. 1-9.

106. Garza-Flores, J. Assessment of luteal function after surgical tubal sterilization / Garza-Flores, J., Vazquez-Estrada, L., Reyes, A. et al. //Advances in contraception. – 1991. – V. 7. – №. 4. – P. 371-377.
107. Gelbaya, T. A. Ovarian response to gonadotropins after laparoscopic salpingectomy or the division of fallopian tubes for hydrosalpinges / Gelbaya, T. A., Nardo, L. G., Fitzgerald, C. T. et al. //Fertility and sterility. – 2006. – V. 85. – №. 5. – P. 1464-1468.
108. Gencer, M. The protective effect of quercetin on IMA levels and apoptosis in experimental ovarian ischemia-reperfusion injury / Gencer, M., Karaca, T., Güngör, A. N. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2014. – V. 177. – P. 135-140.
109. Gill, S. E., Physician opinions regarding elective bilateral salpingectomy with hysterectomy and for sterilization / Gill, S. E., & Mills, B. B. //Journal of minimally invasive gynecology. – 2013. – V. 20. – №. 4. – P. 517-521.
110. Gingold, J. A. Maximum basal FSH predicts reproductive outcome better than cycle-specific basal FSH levels: waiting for a “better” month conveys limited retrieval benefits / Gingold, J. A., Lee, J. A., Whitehouse, M. C. et al. //Reproductive Biology and Endocrinology. – 2015. – V. 13. – P. 91-91.
111. Gizzo S. Female sterilization: Update on clinical efficacy, side effects and contraindications / Gizzo, S., Bertocco, A., Saccardi, C. et al. //Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies. – 2014. – V. 23. – №. 5. – P. 261-270.
112. Greenwald, G. S. Temporal and topographic changes in DNA synthesis after induced follicular atresia / Greenwald, G. S. //Biology of reproduction. – 1989. – V. 41. – №. 1. – P. 175-181.
113. Gungor, A. N. C. Does Omegaven have beneficial effects on a rat model of ovarian ischemia/reperfusion? / Gungor, A. N. C., Turkon, H., Albayrak, A. et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2014. – V. 181. – P. 240-245.

114. Hakverdi, A. U. Changes in ovarian function after tubal sterilization / Hakverdi, A. U., Taner, C. E., Erden, A. C. et al. //Advances in contraception. – 1994. – V. 10. – №. 1. – P. 51-56.
115. Hall, J. E. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome / Hall, J. E., Weltand, C. K., Cramer, D. W. //Human Reproduction. – 1999. – V. 14. – №. 2. – P. 409-415.
116. Hansen K. R. Reproductive ageing and ovarian function: is the early follicular phase FSH rise necessary to maintain adequate secretory function in older ovulatory women? / Hansen, K. R., Thyer, A. C., Sluss, P. M. et al. //Human reproduction. – 2005. – V. 20. – №. 1. – P. 89-95.
117. Hayasaka, S. Comparing Ovarian Reserves After Laparoscopic Excision of Ovarian Endometriotic Cysts and Ovarian Nonendometriotic Cysts / Hayasaka, S., Arai, M., Ugajin, T. et al. //Journal of Gynecologic Surgery. – 2010. – V. 26. – №. 4. – P. 237-241.
118. Hayes, F. J. Differential control of gonadotropin secretion in the human: endocrine role of inhibin / Hayes, F. J., Hall, J. E., Boepple, P. A. //The Journal of clinical endocrinology and metabolism. – 1998. – V. 83. – №. 6. – P. 1835-1841.
119. Hazout, A. Serum antimüllerian hormone/müllerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol / Hazout, A., Bouchard, P., Seifer, D. B. et al. //Fertility and sterility. – 2004. – V. 82. – №. 5. – P. 1323-1329.
120. Hebel, R. Anatomy and embryology of the laboratory rat / Hebel, R., Stromberg, M. W. //BioMed Verlag Worthsee. - 1982. - P. 97-116.
121. Hehenkamp, W. J. Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation / Hehenkamp, W. J., Looman, C. W., Themmen, A. P. et al. //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2006. – V. 91. – №. 10. – P. 4057-4063.

122. Hehenkamp, W. J. Loss of ovarian reserve after uterine artery embolization: a randomized comparison with hysterectomy / Hehenkamp, W. J., Volkers, N. A., Broekmans, F. J. et al. //Human reproduction. – 2007. – V. 22. – №. 7. – P. 1996-2005.
123. Hendriks, D. J. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level / Hendriks, D. J., Mol, B. W. J., Bancsi, L. F. et al. //Fertility and sterility. – 2005. – V. 83. – №. 2. – P. 291-301.
124. Herrmann, G. A sparsely vascularised zone in the cortex of the bovine ovary / Herrmann, G., Spanelborowski, K. //Anatomia, histologia, embryologia. – 1998. – V. 27. – №. 3. – P. 143-146.
125. Himabindu, Y. Anti-mullerian hormone and antral follicle count as predictors of ovarian response in assisted reproduction / Himabindu, Y., Sriharibabu, M., Gopinathan, K. K. et al. //Journal of human reproductive sciences. – 2013. – V. 6. – №. 1. – P. 27.
126. Ho, H. Y. Poor response of ovaries with endometrioma previously treated with cystectomy to controlled ovarian hyperstimulation / Ho, H. Y., Lee, R. K. K., Hwu, Y. M. et al. //Journal of assisted reproduction and genetics. – 2002. – V. 19. – №. 11. – P. 507-511.
127. Hsu, A. Antral follicle count in clinical practice: analyzing clinical relevance / Hsu, A., Army, M., Knee, A. B. et al. //Fertility and sterility. – 2011. – V. 95. – №. 2. – P. 474-479.
128. Hulka J. F., Reich H. Textbook ofLaparoscopy //Orlando, FL: Grune & Stratton. – 1985. – P. 52-71.
129. Iliodromiti, S. The predictive accuracy of anti-Müllerian hormone for live birth after assisted conception: a systematic review and meta-analysis of the literature / Iliodromiti, S., Kelsey, T. W., Wu, O. et al. //Human reproduction update. – 2014. - V. 20. - № 4. – P. 560-570.

130. Ingec, M. Prevention of ischemia-reperfusion injury in rat ovarian tissue with the on-off method / Ingec, M., Isaoglu, U., Yilmaz, M. et al. //Journal of Physiology and Pharmacology. – 2011. – V. 62. – №. 5. – P. 575.
131. Jana, B. Ovarian morphology and hormonal profiles in gilts following surgical denervation at day 12 of the oestrous cycle-preliminary data / Jana, B., Skobowiat, C., Kucharski, J. et al. //Folia morphologica. – 2003. – V. 62. – №. 4. – P. 505-507.
132. Janson P. O. The acute effect of hysterectomy on ovarian blood flow / Janson, P. O., Jansson, I. //American journal of obstetrics and gynecology. – 1977. – V. 127. – №. 4. – P. 349-352.
133. Jayaprakasan, K. The cohort of antral follicles measuring 2–6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-Müllerian hormone and response to controlled ovarian stimulation / Jayaprakasan, K., Deb, S., Batcha, M. et al. //Fertility and sterility. – 2010. – V. 94. – №. 5. – P. 1775-1781.
134. Johnson, N. P. Laparoscopic salpingectomy for women with hydrosalpinges enhances the success of IVF: a Cochrane review / Johnson, N. P., Mak, W., Sowter, M. C. //Human reproduction. – 2002. – V. 17. – №. 3. – P. 543-543.
135. Kalra, G. S.. Ovarian reserve may be compromised after adnexal surgery: Are we sufficiently fertility-focused in our surgical training? / Kalra, G. S., Campbell, S., NarGuNd, G. //Facts, Views & Vision in ObGyn. – 2016. – V. 8. – №. 2. – P. 104-110.
136. Kevenaar, M. E. A polymorphism in the AMH type II receptor gene is associated with age at menopause in interaction with parity / Kevenaar, M. E., Themmen, A. P., Rivadeneira, F. et al. //Human reproduction. – 2007. – V. 22. – №. 9. – P. 2382-2388.
137. Kilic, S. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) immunoreactivities in rat ovaries and uterine tubes after tubal ligation: a controlled immunohistochemical study / Kilic, S., Tasdemir, N., Lortlar, N. et al. //European J. of Contraception and Reproductive Healthcare. – 2008. – V. 13. – №. 4. – P. 431-437.

138. Kontoravdis, A. Proximal tubal occlusion and salpingectomy result in similar improvement in in vitro fertilization outcome in patients with hydrosalpinx / Kontoravdis, A., Makrakis, E., Pantos, K. et al. //Fertility and sterility. – 2006. – V. 86. – №. 6. – P. 1642-1649.
139. Kristensen, S. L. The association between circulating levels of antimüllerian hormone and follicle number, androgens, and menstrual cycle characteristics in young women / Kristensen, S. L., Ramlau-Hansen, C. H., Andersen, C. Y. et al. //Fertility and sterility. – 2012. – V. 97. – №. 3. – P. 779-785.
140. Krzymowski, T. Local retrograde and destination transfer of physiological regulators as an important regulatory system and its role. Facts and hypothesis / Krzymowski, T., Stefanczyk-Krzybowska, S. //J Physiol Pharmacol. – 2012. – V. 63. – P. 3-16.
141. Kurman, R. J. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer—shifting the paradigm / Kurman, R. J., Shih, I. M. //Human pathology. – 2011. – V. 42. – №. 7. – P. 918-931
142. Kurman, R. J. The Origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer—a proposed unifying theory / Kurman, R. J., Shih, I. M. //The American journal of surgical pathology. – 2010. – V. 34. – №. 3. – P. 433.
143. Kurt, R. K. Protective Effect of Colchicine on Ovarian Ischemia–Reperfusion Injury An Experimental Study / Kurt, R. K., Dogan, A. C., Dogan, M. et al. //Reproductive Sciences. – 2014. – P. 193.
144. Kwon, J. S. Prophylactic salpingectomy and delayed oophorectomy as an alternative for BRCA mutation carriers / Kwon, J. S., Tinker, A., Pansegrau, G. et al. //Obstetrics & Gynecology. – 2013. – V. 121. – №. 1. – P. 14-24.
145. La Marca, A. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART) / a Marca, A., Sighinolfi, G., Radi, D. et al. //Human reproduction update. – 2010. – V. 16. – №. 2. – P. 113-130.

146. La Marca, A. The use of ovarian reserve markers in IVF clinical practice: a national consensus / La Marca, A., Ferraretti, A. P., Palermo, R. et al. //Gynecological Endocrinology. – 2016. – V. 32. – №. 1. – P. 1-5.
147. Lass, A. Effect of salpingectomy on ovarian response to superovulation in an in vitro fertilization–embryo transfer program / Lass, A., Ellenbogen, A., Croucher, C. et al. //Fertility and sterility. – 1998. – V. 70. – №. 6. – P. 1035-1038.
148. Lass, A. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in-vitro fertilization can predict poor response / Lass, A., Skull, J., McVeigh, E. et al. //Human reproduction. – 1997. – V. 12. – №. 2. – P. 294-297.
149. Laven, J. S. Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age / Laven, J. S., Mulders, A. G., Visser, J. A. et al. //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2004. – V. 89. – №. 1. – P. 318-323.
150. Lee, D. Y. Change in the ovarian environment after hysterectomy as assessed by ovarian arterial blood flow indices and serum anti-Müllerian hormone levels / Lee, D. Y., Park, H. J., Kim, B. G. et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2010. – V. 151. – №. 1. – P. 82-85.
151. Licciardi, F.L. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization / Licciardi, F.L., Liu, H.C., Rosenwaks, Z. // Fertility and sterility. – 1995. – V. 64. – P. 991–995..
152. Lukaszuk, K. Use of ovarian reserve parameters for predicting live births in women undergoing in vitro fertilization / Lukaszuk, K., Kunicki, M., Liss, J. et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2013. – V. 168. – №. 2. – P. 173-177.
153. Malamitsi-Puchner, A. Concentrations of angiogenic factors in follicular fluid and oocyte-cumulus complex culture medium from women undergoing in vitro

fertilization: association with oocyte maturity and fertilization / Malamitsi-Puchner, A., Sarandakou, A., Baka, S. G. et al. //Fertility and sterility. – 2001. – V. 76. – №. 1. – P. 98-101.

154. Matsuda, F. Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells / Matsuda, F., Inoue, N., Manabe, N. et al. //Journal of Reproduction and Development. – 2012. – V. 58. – №. 1. – P. 44-50.

155. Muttukrishna, S. Serum concentrations of dimeric inhibins, activin A, gonadotrophins and ovarian steroids during the menstrual cycle in older women / Muttukrishna, S., Child, T., Lockwood, G. M. et al. //Human reproduction. – 2000. – V. 15. – №. 3. – P. 549-556.

156. McAlpine, J. N. Opportunistic salpingectomy: uptake, risks, and complications of a regional initiative for ovarian cancer prevention / McAlpine, J. N., Hanley, G. E., Woo, M. M. et al. //American journal of obstetrics and gynecology. – 2014. – V. 210. – №. 5. – P. 471.

157. McComb, P. Decreasing the number of ovulations in the rabbit with surgical division of the blood vessels between the fallopian tube and ovary / McComb, P., Delbeke, L. //The Journal of reproductive medicine. – 1984. – V. 29. – №. 11. – P. 827-829.

158. Meirow, D. Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injury / Meirow, D., Dor, J., Kaufman, B. et al. //Human reproduction. – 2007. – V. 22. – №. 6. – P. 1626-1633.

159. Metallinou, C. Gonadotropin-releasing hormone in the ovary / Metallinou, C., Asimakopoulos, B., Schröer, A. et al. //Reproductive sciences. – 2007. – V. 14. – №. 8. – P. 737-749.

160. Millier, S. G. Follicular oestrogen synthesis: the “two-cell, two-gonadotrophin” model revisited / Millier, S. G., Whitelaw, P. F., Smyth, C. D. //Molecular and cellular endocrinology. – 1994. – V. 100. – №. 1. – P. 51-54.

161. Mol, F. Salpingotomy versus salpingectomy in women with tubal pregnancy (ESEP study): an open-label, multicentre, randomised controlled trial / Mol, F., van Mello, N. M., Strandell, A. et al. //The Lancet. – 2014. – V. 383. – №. 9927. – P. 1483-1489.
162. Monteleone, P. Follicular fluid VEGF levels directly correlate with perfollicular blood flow in normoresponder patients undergoing IVF / Monteleone, P., Artini, P. G., Simi, G. et al. //Journal of assisted reproduction and genetics. – 2008. – V. 25. – №. 5. – P. 183-186.
163. Moorman, P. G. Effect of hysterectomy with ovarian preservation on ovarian function / Moorman, P. G., Myers, E. R., Schildkraut, J. M. et al. //Obstetrics and gynecology. – 2011. – V. 118. – №. 6. – P. 1271.
164. Morelli, M. et al. Prophylactic salpingectomy in premenopausal low-risk women for ovarian cancer: primum non nocere / Morelli, M., Venturella, R., Mocciaro, R. et al. //Gynecologic oncology. – 2013. – V. 129. – №. 3. – P. 448-451.
165. Morosky, C. M. Salpingectomy at the time of hysterectomy for benign indications: a survey study / Morosky, C. M., Kueck, K. D. //Obstetrics & Gynecology. – 2014. – V. 123. – P. 126.
166. Motta, P. M. Three-dimensional microanatomical dynamics of the ovary in postreproductive aged women / Motta, P. M., Heyn, R., Makabe, S. //Fertility and sterility. – 2002. – V. 78. – №. 2. – P. 360-370.
167. Murakami, E. Ovarian blood vessel occlusion as a surgical sterilization method in rats / Murakami, E., Camargo, L. S. D., Cardoso, K. C. D. F. et al. //Acta Cirurgica Brasileira. – 2014. – V. 29. – №. 4. – P. 218-223.
168. Muttukrishna, S. Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients? / Muttukrishna, S., Suharjono, H., McGarrigle, H. et al. //BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. – 2004. – V. 111. – №. 11. – P. 1248-1253.

169. Myers, M. Loss of inhibin alpha uncouples oocyte-granulosa cell dynamics and disrupts postnatal folliculogenesis / Myers, M., Middlebrook, B. S., Matzuk, M. M. et al. //Developmental biology. – 2009. – V. 334. – №. 2. – P. 458-467.
170. Nahás, E. A. P. Effect of total abdominal hysterectomy on ovarian blood supply in women of reproductive age / Nahás, E. A. P., Pontes, A., Nahas-Neto, J. et al. //Journal of ultrasound in medicine. – 2005. – V. 24. – №. 2. – P. 169-174.
171. Ni, L. Influence of various tubal surgeries to serum antimullerian hormone level and outcome of the subsequent IVF-ET treatment / Ni, L., Sadiq, S., Mao, Y. et al. //Gynecological Endocrinology. – 2013. – V. 29. – №. 4. – P. 345-349.
172. Nilsson, E. E. Inhibitory actions of Anti-Müllerian Hormone (AMH) on ovarian primordial follicle assembly / Nilsson, E. E., Schindler, R., Savenkova, M. I. et al. //PloS one. – 2011. – V. 6. – №. 5. – P. e20087.
173. Noventa, M. Salpingectomy before assisted reproductive technologies: a systematic literature review / Noventa, M., Gizzo, S., Saccardi, C. et al. //Journal of Ovarian Research. – 2016. – V. 9. – №. 1. – P. 74.
174. Ortega-Camarillo, C. Changes in the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in granulosa cells during follicular atresia in ewes / Ortega-Camarillo, C., González-González, A., Vergara-Onofre, M. et al. //Reproduction. – 2009. – V. 137. – №. 6. – P. 979-986.
175. Orvieto, R. Does salpingectomy affect the ipsilateral ovarian response to gonadotropin during in vitro fertilization–embryo transfer cycles? / Orvieto, R., Saar-Ryss, B., Morgante, G. et al. //Fertility and sterility. – 2011. – V. 95. – №. 5. – P. 1842-1844.
176. Ou, J. Short versus Long Gonadotropin-Releasing Hormone Analogue Suppression Protocols in IVF/ICSI Cycles in Patients of Various Age Ranges / Ou, J., Xing, W., Li, Y., Xu, Y. et al. //PloS one. – 2015. – V. 10. – №. 7. – P. e0133887.
177. Overbeek, A. Intra-cycle fluctuations of anti-Müllerian hormone in normal women with a regular cycle: a re-analysis / Overbeek, A., Broekmans, F. J.,

Hehenkamp, W. J. et al. //Reproductive biomedicine online. – 2012. – V. 24. – №. 6. – P. 664-669.

178. Özdamar, S. Effects of hysterectomy on ovarian morphology and serum FSH level in rats / Özdamar, S., Ülger, H., Sorkun, H. C. et al. //Maturitas. – 2005. – V. 52. – №. 1. – P. 60-64.

179. Ozkisacik, S. Does gradual detorsion protect the ovary against ischemia–reperfusion injury in rats? / Ozkisacik, S., Yazici, M., Gursoy, H. et al. //Pediatric surgery international. – 2014. – V. 30. – №. 4. – P. 437-440.

180. Özyer, Ş. Tubal sterilization during cesarean section or as an elective procedure? Effect on the ovarian reserve / Özyer, Ş., Moraloğlu, Ö., Gülerman, C. et al. //Contraception. – 2012. – V. 86. – №. 5. – P. 488-493.

181. Patrelli, T. S. Anti-Müllerian hormone serum values and ovarian reserve: can it predict a decrease in fertility after ovarian stimulation by ART cycles? / Patrelli, T. S., Gizzo, S., Sianesi, N. et al. //PLoS One. – 2012. – V. 7. – №. 9. – P. e44571.

182. Pellatt, L. Granulosa cell production of anti-Mullerian hormone is increased in polycystic ovaries / Pellatt, L., Hanna, L., Brincat, M. et al. //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2007. – V. 92. – №. 1. – P. 240-245.

183. Perrelli, M. G. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: role of mitochondria and reactive oxygen species / Perrelli, M. G., Pagliaro, P., Penna, C. //World journal of cardiology. – 2011. – V. 3. – №. 6. – P. 186.

184. Piltonen, T. Serum anti-Müllerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome / Piltonen, T., Morin-Papunen, L., Koivunen, R. et al. //Human Reproduction. – 2005. – V. 20. – №. 7. – P. 1820-1826.

185. Polyzos, N. P. Predictors of ovarian response in women treated with corifollitropin alfa for in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection / Polyzos, N. P., Tournaye, H., Guzman, L. //Fertility and sterility. – 2013. – V. 100. – №. 2. – P. 430-437.

186. Qin, F. The Effect of Salpingectomy on Ovarian Reserve and Ovarian Function / Qin, F., Du, D. F., Li, X. L. //Obstetrical & Gynecological Survey. – 2016. – V. 71. – №. 6. – P. 369-376.
187. Ramakrishnappa, N. GnRH in non-hypothalamic reproductive tissues / Ramakrishnappa, N., Rajamahendran, R., Lin, Y. M. et al. //Animal reproduction science. – 2005. – V. 88. – №. 1. – P. 95-113.
188. Randolph, J. F. Updated assays for inhibin B and AMH provide evidence for regular episodic secretion of inhibin B but not AMH in the follicular phase of the normal menstrual cycle / Randolph, J. F., Harlow, S. D., Helmuth, M. E. et al. //Human Reproduction. – 2013. – P. 447.
189. Ranney, B. The effect of hysterectomy on ovarian function / Ranney, B., Peckham, B. M., Greene, R. R. //Quarterly Bulletin of the Northwestern University Medical School. – 1949. – V. 23. – №. 1. – P. 100.
190. Repasy, I. Effect of the removal of the Fallopian tube during hysterectomy on ovarian survival: the orphan ovary syndrome / Repasy, I., Lendvai, V., Koppan, A. et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2009. – V. 144. – №. 1. – P. 64-67.
191. Riedel, H. H. Ovarian failure phenomena after hysterectomy / Riedel, H. H., Lehmann-Willenbrock, E., Semm, K. //The Journal of reproductive medicine. – 1986. – V. 31. – №. 7. – P. 597-600.
192. Romeu, A. Results of in vitro fertilization attempts in women 40 years of age and older: the Norfolk experience / Romeu, A., Muasher, S. J., Acosta, A. A. et al. //Fertility and sterility. – 1987. – V. 47. – №. 1. – P. 130-136.
193. Ruixing, Y. Intramyocardial injection of vascular endothelial growth factor gene improves cardiac performance and inhibits cardiomyocyte apoptosis / Ruixing, Y., Dezhai, Y., Hai, W. //European journal of heart failure. – 2007. – V. 9. – №. 4. – P. 343-351.

194. Rustamov, O. Effect of salpingectomy, ovarian cystectomy and unilateral salpingo-oophorectomy on ovarian reserve / Rustamov, O., Krishnan, M., Roberts, S. A. et al. //Gynecological Surgery. – 2016. – P. 1-6.
195. Ryu, R. K. Sonography of delayed effects of uterine artery embolization on ovarian arterial perfusion and function / Ryu, R. K., Siddiqi, A., Omary, R. A. et al. //American Journal of Roentgenology. – 2003. – V. 181. – №. 1. – P. 89-92.
196. Sahin Ersoy, G. Comparison of the long-term effects of single-dose methotrexate and salpingectomy on ovarian reserve in terms of anti-müllerian hormone levels / Sahin Ersoy, G., Turhan, O. T., Sakin, O. et al. //Human Fertility. – 2016. – P. 1-6.
197. Saito, N. Compared with Cystectomy, Is Ovarian Vaporization of Endometriotic Cysts Truly More Effective in Maintaining Ovarian Reserve? / Saito, N., Okuda, K., Yuguchi, H. et al. //Journal of minimally invasive gynecology. – 2014. – V. 21. – №. 5. – P. 804-810.
198. Santoro, N., Adel, T., Skurnick, J. H. Decreased inhibin tone and increased activin A secretion characterize reproductive aging in women / Santoro, N., Adel, T., Skurnick, J. H. //Fertility and sterility. – 1999. – V. 71. – №. 4. – P. 658-662.
199. Scheffer, J. B. Relationship of serum anti-Müllerian hormone, inhibin B, estradiol and FSH on day 3 with ovarian follicular status / Scheffer, J. B., Lozano, D. M., Frydman, R., et al. //Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia. – 2007. – V. 29. – №. 4. – P. 186-191.
200. Schirman-Hildesheim, T. D. Local production of the gonadotropic hormones in the rat ovary / Schirman-Hildesheim, T. D., Gershon, E., Litichever, N. et al. //Molecular and cellular endocrinology. – 2008. – V. 282. – №. 1. – P. 32-38.
201. Seifer, D. B. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome / Seifer, D. B., Lambert-Messerlian, G., Hogan, J. W. et al. //Fertility and sterility. – 1997. – V. 67. – №. 1. – P. 110-114.

202. Sen, A.. Granulosa cell-specific androgen receptors are critical regulators of ovarian development and function / Sen, A., Hammes, S. R. //Molecular Endocrinology. – 2010. – V. 24. – №. 7. – P. 1393-1403.
203. Sezik, M. Total salpingectomy during abdominal hysterectomy: effects on ovarian reserve and ovarian stromal blood flow / Sezik, M., Ozkaya, O., Demir, F. et al. //Journal of Obstetrics and Gynaecology Research. – 2007. – V. 33. – №. 6. – P. 863-869
204. Shen, M. Involvement of the up-regulated FoxO1 expression in follicular granulosa cell apoptosis induced by oxidative stress / Shen, M., Lin, F., Zhang, J., Tang, Y. et al. //Journal of Biological Chemistry. – 2012. – V. 287. – №. 31. – P. 25727-25740.
205. Shimizu, T. Angiogenesis and microvasculature in the female reproductive organs: physiological and pathological implications / Shimizu, T., Hoshino, Y., Miyazaki, H. et al. //Current pharmaceutical design. – 2012. – V. 18. – №. 3. – P. 303-309.
206. Siddle, N. The effect of hysterectomy on the age at ovarian failure: identification of a subgroup of women with premature loss of ovarian function and literature review / Siddle, N., Sarrel, P., Whitehead, M. //Fertility and sterility. – 1987. – V. 47. – №. 1. – P. 94-100.
207. Singh, R. Gonadotropin releasing hormone receptor gene and protein expression and immunohistochemical localization in bovine uterus and oviducts / Singh, R., Graves, M. L., Roskelley, C. D. et al. //Domestic animal endocrinology. – 2008. – V. 34. – №. 3. – P. 319-326.
208. Smotrich, D. B. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome / Smotrich, D. B., Widra, E. A., Gindoff, P. R. et al. //Fertility and Sterility. – 1995. - V. 64. – P. 1136–1140.
209. Song, T. Opportunistic Salpingectomy Does Not Affect Ovarian Reserve or Surgical Outcomes in Patients Undergoing Laparoscopic Myomectomy / Song, T., Lee,

- S. H., Kim, W. Y. et al. //Gynecologic and Obstetric Investigation. – 2016. – V. 81. - №6. – P. 481-489.
210. Souza, A. Z. Ovarian histology and function after total abdominal hysterectomy / Souza, A. Z., Fonseca, A. M., Izzo, V. M. et al. //Obstetrics & Gynecology. – 1986. – V. 68. – №. 6. – P. 847-849.
211. Strandell, A. Prophylactic salpingectomy does not impair the ovarian response in IVF treatment / Strandell, A., Lindhard, A., Waldenström, U. et al. //Human reproduction. – 2001. – V. 16. – №. 6. – P. 1135-1139.
212. Strandell, A. The presence of cytokines and growth factors in hydrosalpingeal fluid / Strandell, A., Thorburn, J., Wallin, A. //Journal of assisted reproduction and genetics. – 2004. – V. 21. – №. 7. – P. 241-247.
213. Suzuki, T. Impact of ovarian endometrioma on oocytes and pregnancy outcome in in vitro fertilization / Suzuki, T., Izumi, S. I., Matsubayashi, H. et al. //Fertility and sterility. – 2005. – V. 83. – №. 4. – P. 908-913.
214. Svingen, T. Three-dimensional imaging of Prox1-EGFP transgenic mouse gonads reveals divergent modes of lymphangiogenesis in the testis and ovary / Svingen, T., François, M., Wilhelm, D. et al. //PloS one. – 2012. – V. 7. – №. 12. – P. e52620.
215. Syrop, C. H. Ovarian volume may predict assisted reproductive outcomes better than follicle stimulating hormone concentration on day 3 / Syrop, C. H., Dawson, J. D., Husman, K. J. et al. //Human Reproduction. – 1999. – V. 14. – №. 7. – P. 1752-1756.
216. Tal, J. Ovarian response to gonadotropin stimulation in repeated IVF cycles after unilateral salpingectomy / Tal, J., Paltieli, Y., Korobotchka, R. et al. //Journal of assisted reproduction and genetics. – 2002. – V. 19. – №. 10. – P. 451-455.
217. Tapisiz, O. L. Does hysterectomy affect ovarian function? Histopathologic evaluation and serum FSH, inhibin A, and inhibin B levels in an experimental rat model / Tapisiz, O. L., Gungor, T., Aytan, H. et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2008. – V. 140. – №. 1. – P. 61-66.

218. Tarlatzis, B. C. Perimenopausal conception / Tarlatzis, B. C., Zepiridis, L. //Annals of the New York Academy of Sciences. – 2003. – V. 997. – P. 93.
219. Tinkanen, H. Correlation between serum inhibin B and other indicators of the ovarian function / Tinkanen, H., Bläuer, M., Laippala, P. et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2001. – V. 94. – №. 1. – P. 109-113.
220. Tiras, M. B. The changes in ovarian hormone levels and ovarian artery blood flow rate after laparoscopic tubal sterilization / Tiras, M. B., Noyan, V., Ozdemir, H. et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2001. – V. 99. – №. 2. – P. 219-221.
221. Tomas, C. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization / Tomas, C., Nuojua-Huttunen, S., Martikainen, H. //Human Reproduction. – 1997. – V. 12. – №. 2. – P. 220-223.
222. Toyganözü, H. Examination of the ovarian reserve after generation of unilateral rudimentary uterine horns in rats / Toyganözü, H., Nazik, H., Narin, R. et al. //The Scientific World Journal. – 2014. – V. 2014. – P. 918496.
223. Tripathy, S. Analysis of 17β -estradiol (E 2) role in the regulation of corpus luteum function in pregnant rats: Involvement of IGFBP5 in the E 2-mediated actions / Tripathy, S., Asaithambi, K., Jayaram, P. et al. //Reproductive Biology and Endocrinology. – 2016. – V. 14. – №. 1. – P. 19.
224. Tunçkiran, A. Protective effect of vascular endothelial growth factor on histologic changes in testicular ischemia-reperfusion injury / Tunçkiran, A., Çayan, S., Bozlu, M. et al. //Fertility and sterility. – 2005. – V. 84. – №. 2. – P. 468-473.
225. Uchida, S. Autonomic nervous regulation of ovarian function by noxious somatic afferent stimulation / Uchida, S., Kagitani, F. //The Journal of Physiological Sciences. – 2015. – V. 65. – №. 1. – P. 1-9.
226. Ulug, P. Evaluation of the effects of single or multiple dose methotrexate administration, salpingectomy on ovarian reserve of rat with the measurement of anti-

- Müllerian hormone (AMH) levels and histological analysis / Ulug P., Oner G. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2014. – V. 181. – P. 205-209.
227. Uyar, I. Effect of single-dose methotrexate on ovarian reserve in women with ectopic pregnancy / Uyar, I., Yucel, O. U., Gezer, C. et al. //Fertility and sterility. – 2013. – V. 100. – №. 5. – P. 1310-1313.
228. Van Blerkom, J. Intrafollicular influences on human oocyte developmental competence: perifollicular vascularity, oocyte metabolism and mitochondrial function / Van Blerkom, J. //Human Reproduction. – 2000. – V. 15. – №. suppl. 2. – P. 173-188.
229. Van Rooij, I. A. Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study / Van Rooij, I. A., Broekmans, F. J., Scheffer, G. J. et al. //Fertility and sterility. – 2005. – V. 83. – №. 4. – P. 979-987.
230. Van Rooij I. A. et al. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve / Van Rooij, I. A., Broekmans, F. J. M., Te Velde, E. R. et al. //Human Reproduction. – 2002. – V. 17. – №. 12. – P. 3065-3071.
231. Venturella, R. Prophylactic bilateral salpingectomy for the prevention of ovarian cancers: What is happening in Italy? / Venturella, R., Rocca, M., Lico, D. et al. //European Journal of Cancer Prevention. – 2016. – V. 25. – №. 5. – P. 410-415.
232. Venturella, R. Wide excision of soft tissues adjacent to the ovary and fallopian tube does not impair the ovarian reserve in women undergoing prophylactic bilateral salpingectomy: results from a randomized, controlled trial / Venturella, R., Morelli, M., Lico, D. et al. //Fertility and sterility. – 2015. – V. 104. – №. 5. – P. 1332-1339.
233. Venturella, R. The Fallopian Tube in the 21st Century: When, Why, and How to Consider Removal / Venturella, R., Morelli, M., Zullo, F. //The oncologist. – 2015. – V. 20. – №. 11. – P. 1227-1229.
234. Verhulst, G. Bilateral salpingectomy does not compromise ovarian stimulation in an in-vitro fertilization/embryo transfer programme / Verhulst, G., Vandersteen, N.,

- Van Steirteghem, A. C. et al. //Human Reproduction. – 1994. – V. 9. – №. 4. – P. 624-628.
235. Wallwiener, C. W. Quantifying electrosurgery-induced thermal effects and damage to human tissue: An exploratory study with the fallopian tube as a novel in-vivo in-situ model / Wallwiener, C. W., Rajab, T. K., Krämer, B. //Journal of minimally invasive gynecology. – 2010. – V. 17. – №. 1. – P. 70-77.
236. Walters, K. A. Androgen actions and the ovary / Walters, K. A., Allan, C. M., Handelsman, D. J. //Biology of Reproduction. – 2008. – V. 78. – №. 3. – P. 380-389.
237. Warne, G. L. Cyclophosphamide-induced ovarian failure / Warne, G. L., Fairley, K. F., Hobbs, J. B. et al. //New England Journal of Medicine. – 1973. – V. 289. – №. 22. – P. 1159-1162
238. Weenen, C. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment / Weenen, C., Laven, J. S., Von Bergh, A. R. et al. //Molecular human reproduction. – 2004. – V. 10. – №. 2. – P. 77-83.
239. Williams, C. M. Ovarian endometriomas during IVF treatment: do they affect outcome? / Williams, C. M., Ho Yuen, B., Klein, N. A. et al. //Fertility and sterility – international edition. – 1998. – V. 70. – P. 045-049.
240. Xi, W. Ovarian response to gonadotropins after laparoscopic salpingectomy for ectopic pregnancy / Xi, W., Gong, F., Tang, Y. et al. //International Journal of Gynecology & Obstetrics. – 2012. – V. 116. – №. 2. – P. 93-96.
241. Xiangying, H. The effect of hysterectomy on ovarian blood supply and endocrine function / Xiangying, H., Lili, H., Yifu, S. //Climacteric. – 2006. – V. 9. – №. 4. – P. 283-289.
242. Xiao, S. Basal serum testosterone levels correlate with ovarian reserve and ovarian response in cycling women undergoing in vitro fertilization / Xiao, S., Li, Y., Long, L. et al. //Gynecological Endocrinology. – 2016. – V. 32. – №. 1. – P. 51-54.

243. Xu, F. Existence of the lymphatic system in the primate corpus luteum / Xu, F., Stouffer, R. L. //Lymphatic research and biology. – 2009. – V. 7. – №. 3. – P. 159-168.
244. Yang, M. Y. Testosterone stimulates the primary to secondary follicle transition in bovine follicles in vitro / Yang, M. Y., Fortune, J. E. //Biology of Reproduction. – 2006. – V. 75. – №. 6. – P. 924-932.
245. Yang, X. J. Influence of different operation modes in treatment of leiomyoma on reproductive endocrine hormone levels / Yang, X. J., Li, N., Fang, X. L., //Zhonghua yi xue za zhi. – 2007. – V. 87. – №. 1. – P. 20-22.
246. Yao, M. Current status of surgical and nonsurgical management of ectopic pregnancy / Yao, M., Tulandi, T. //Fertility and sterility. – 1997. – V. 67. – №. 3. – P. 421-433.
247. Yapca, O. E. Benefits of the antioxidant and anti-inflammatory activity of etoricoxib in the prevention of ovarian ischemia/reperfusion injury induced experimentally in rats / Yapca, O. E., Turan, M. I., Yilmaz, I. et al. //Journal of Obstetrics and Gynaecology Research. – 2014. – V. 40. – №. 6. – P. 1674-1679.
248. Yding Andersen, C. Concentration of anti-Mullerian hormone and inhibin-B in relation to steroids and age in follicular fluid from small antral human follicles / Yding Andersen, C., Rosendahl, M., Byskov, A. G. //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2008. – V. 93. – №. 6. – P. 2344-2349.
249. Ye, X. A retrospective analysis of the effect of salpingectomy on serum antiMüllerian hormone level and ovarian reserve / Ye, X., Yang, Y., Sun, X. //American journal of obstetrics and gynecology. – 2015. – V. 212. – №. 1. – P. 53.
250. Yu, P. H. Evaluation of endoscopic salpingectomy for sterilization of female Formosan macaques (*Macaca cyclopis*) / Yu, P. H., Weng, C. C., Kuo, H. C. t al. //American journal of primatology. – 2015. – V. 77. – №. 4. – P. 359-367.
251. Yuan, H.. Comparing the Effect of Laparoscopic Supracervical and Total Hysterectomy for Uterine Fibroids on Ovarian Reserve by Assessing Serum Anti-Mullerian Hormone Levels: A Prospective Cohort Study / Yuan, H., Wang, C.,

Wang, D. et al. //Journal of minimally invasive gynecology. – 2015. – V. 22. – №. 4. – P. 637-641.

252. Zelezni, I A. J. Gonadotropin-Binding Sites in the Rhesus Monkey Ovary: Role of the Vasculature in the Selective Distribution of Human Chorionic Gonadotropin to the Preovulatory Follicle / Zelezni, I A. J., Schuler, H. M., Reichert, JR L. E. O. E. //Endocrinology. – 1981. – V. 109. – №. 2. – P. 356-362.

253. Zhang, J. Protective effects and mechanisms investigation of Kuntai capsule on the ovarian function of a novel model with accelerated aging ovaries / Zhang, J., Fang, L., Shi, L. et al. //Journal of ethnopharmacology. – 2017. – V. 195. – P. 173-181.

254. Zhang Y. Effects of testosterone on the expression levels of AMH, VEGF and HIF-1 α in mouse granulosa cells / Zhang, Y., Wang, S. F., Zheng, J. D. et al. //Experimental and Therapeutic Medicine. – 2016. – V. 12. – №. 2. – P. 883-888.

255. Zhang, Y. et al. Salpingectomy and Proximal Tubal Occlusion for Hydrosalpinx Prior to In Vitro Fertilization: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials / Zhang, Y., Sun, Y., Guo, Y. et al. //Obstetrical & gynecological survey. – 2015. – V. 70. – №. 1. – P. 33-38.

256. Zhu, R. Anti-müllerian hormone, antral follicle count and ovarian volume predict menstrual cycle length in healthy women / Zhu, R., Lee, B. H., Huang, Z. et al. //Clinical endocrinology. – 2015. – V. 84. - № 6. – P. 870-877.