

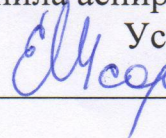
Санкт-Петербургский государственный университет
Медицинский факультет
Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии

Выпускная квалификационная работа на тему:

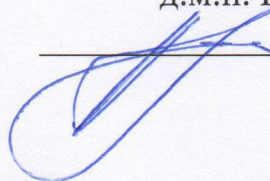
«Хроническое воспалительное заболевание эндометрия.
Экспериментальная модель»

Специальность 14.01.01 – Акушерство и гинекология

Выполнила аспирант кафедры
Усольцева Е.О.



Научный руководитель
д.м.н. Гзгзян А.М.



Санкт-Петербург, 2016

Оглавление

Список использованных сокращений	3
Введение	4
Цель и задачи исследования	5
1. Обзор литературы	6
2. Материалы и методы	15
2.1. Материалы исследования	15
2.2. Методы исследования.....	16
2.2.1. Операционная процедура	16
2.2.2. Эстрогенизация экспериментальных животных	18
2.2.3. Эндоскопическое исследование (обзорная лапароскопия) ...	19
2.2.4. Морфологическое исследование.....	21
2.2.5. Статистические методы.....	22
3. Результаты	24
3.1. Комплексная характеристика имплантатов аутологичного эндометрия неэстрогенизированных животных.....	24
3.1.1. Характеристика имплантатов, фиксированных с использованием общехирургической техники.....	24
3.1.2. Характеристика имплантатов, фиксированных с использованием микрохирургической техники	27
3.2. Комплексная характеристика имплантатов аутологичного эндометрия эстрогенизированных животных	29
3.2.1. Результаты процедуры имплантации с использованием общехирургической и микрохирургической операционных техник.	29
3.2.2. Результаты моделирования в группах после механического, электрохирургического и лазерного воздействия.	34
3.3. Сравнительный анализ эффективности моделирования в экспериментальных группах	42
4. Обсуждение результатов	48
5. Выводы	51
Литература.....	53

Список использованных сокращений

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии;

ОХТ – общехирургическая техника;

МХТ – микрохирургическая техника;

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение.

Введение

Эндометрий представляет собой высокоспециализированную ткань, главная функция которой – обеспечение благоприятного микроокружения для бластоцисты в процессе имплантации. Функциональную полноценность эндометрия обеспечивают гормональная рецептивность, реализующаяся в виде циклической морфологической трансформации и секреторных преобразований ткани, а также синтез белков, необходимых для молекулярного взаимодействия с бластоцистой. Особенности строения и функционирования эндометрия определяют ответ ткани на действие повреждающих факторов с развитием сложных морфологических изменений, затрагивающих и рецепторный, и белково-синтетический аппарат. Различные методы вспомогательных репродуктивных технологий решают проблему невозможности естественного оплодотворения, но процессы имплантации и дальнейшего взаимодействия экстраэмбриональных структур с эндометрием по-прежнему находятся вне нашего контроля. Именно поэтому имеет место высокий процент неудач при переносе полноценного эмбриона в полость матки.

Наиболее частой причиной нарушения функций эндометрия является хронический воспалительный процесс [Aplin, J.D., 2007; Cicinelli E., 2015; Conway D.A., 2010]. Существующие традиционные методы лечения хронического эндометрита, которые включают длительную комплексную терапию с применением антибактериальных, противовоспалительных, иммуномодулирующих препаратов и использование методов физиотерапевтического воздействия не позволяют достигнуть ожидаемого результата относительно восстановления функциональной полноценности эндометрия.

Для разработки эффективных патогенетических методов терапевтического воздействия на повреждённую ткань эндометрия необходимо детальное изучение клинико-морфологических характеристик хронического воспалительного процесса в эндометрии. Именно этим целям служит экспериментальное воспроизведение характерной воспалительной реакции слизистой оболочки матки в ответ на действие повреждающих факторов разной природы.

Цель и задачи исследования

Целью исследования была разработка протокола экспериментального моделирования хронического воспалительного заболевания эндометрия.

С целью достижения поставленной цели были выделены следующие задачи:

1. Оценить влияние предоперационной эстрогенизации на морфологические характеристики имплантатов аутологичного эндометрия экспериментальных животных;
2. Оценить изменения в ткани эндометрия, вызванные механическим воздействием;
3. Оценить изменения в ткани эндометрия, вызванные лазерным воздействием;
4. Оценить изменения в ткани эндометрия, вызванные электрохирургическим воздействием;
5. Произвести сравнительный анализ эффективности использования различных повреждающих факторов для воспроизведения хронической воспалительной реакции в ткани эндометрия в эксперименте.

1. Обзор литературы

Эндометрий представляет собой уникальную ткань, обладающую мощным регенеративным потенциалом. Повышенная способность эндометрия к самообновлению обеспечивает ежемесячную смену фаз менструального цикла от фазы пролиферации к последующей секреторной трансформации, что позволяет создавать благоприятные условия для имплантации бластоцисты в каждом менструальном цикле. В сравнении с другими тканями, также обладающими высокой скоростью замещения клеточных элементов, таких как эпидермис и слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта, эндометрий имеет относительно сложную гистологическую организацию. Выделяют функциональный слой эндометрия, обеспечивающий адекватное микроокружение для имплантации, и базальный слой, основной целью которого является восстановление десквамированного в ходе менструации функционального слоя [Кроненберг Г.М., 2011]. В состав как базального, так и функционального слоев эндометрия входят эпителиальный, стромальный и сосудистый компоненты [Кроненберг Г.М., 2011]. Клеточный состав и морфологические характеристики каждого из компонентов ткани эндометрия имеют строго определенную динамику в соответствии с фазой менструального цикла [Aplin, J.D., 2007]. Сложность строения и узкоспециализированные функции эндометрия определяют особенности реакции ткани эндометрия на действие повреждающих факторов. Тканевой ответ на повреждение чаще проявляется в виде развития выраженных морфологических изменений, которые с трудом поддаются коррекции.

Стабильно высокая частота бесплодия и привычной потери беременности, низкая эффективность методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), в том числе методов

экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), обуславливаются структурной и функциональной несостоятельностью эндометрия [Cicinelli E., 2015; Lamonica R., 2006]. Одной из распространенных причин снижения рецептивности эндометрия и как следствие – нарушения имплантации является хронический эндометрит [Кулаков, В.И., 2005; Сухих Г.Т., 2010; Rein D.B., 2000]. Частота хронического эндометрита различается в зависимости от исследуемой группы пациенток и используемых диагностических методов: от 8% среди пациенток гинекологического профиля, проходивших процедуру аспирационной биопсии эндометрия до 30 - 60% среди пациенток с повторными неудачами имплантации в анамнезе [Johnston-MacAnanny E.B., 2010; Cicinelli E., 2015; Conway D.A., 2010; Рудакова Е.Б., 2012; Kitaya K., 2016].

Воспалительная реакция в эндометрии проявляется в виде избыточного повреждения нормальных клеточных элементов. Цитолиз исходно нормальных клеток эндометрия с высвобождением множества антигенов создаёт возможность стимуляции иммунитета антигенами собственных тканей с последующим развитием аутоиммунной реакции. Активное функционирование иммунокомпетентных клеток в эндометрии ведёт к высвобождению множества как противо-, так и провоспалительных факторов, создавая дисбаланс и разнонаправленность иммунного ответа. Кроме того, иммунокомпетентные клетки, являясь источником активных форм кислорода и перекиси водорода, запускают процесс перекисного окисления липидов и повреждение клеточных мембран. Регенерация, как логическое завершение процесса воспаления, в описанных условиях реализуется в виде фиброза стромы, нарушающего структурную и функциональную адекватность эндометрия [Кулаков, В.И., 2005; Рудакова Е.Б., 2008; Yorukoglu K., 1998].

Основными морфологическими изменениями, присущими хроническому эндометриту являются: обнаружение плазматических клеток в строме ткани [Kitaya K., 2011; Johnston-MacAnanny E.B., 2010; Smith M., 2010; Conway D.A., 2010], диффузная или очаговая инфильтрация стромы [Porubova Y.P., 2012], очаговый и диффузный фиброз стромы, склеротические изменения стенок спиральных артерий эндометрия, появляющиеся при длительном течении заболевания [Кузнецова А.В., 2000; Хмельницкий О.К., 1994]. Кроме основных, являющихся диагностическими, морфологических характеристик хронического эндометрита можно выделить и сопутствующие изменения: отставание в развитии стромы [Kitaya K., 2011; Porubova Y.P., 2012] и изменение гистоархитектоники ткани эндометрия, проявляющееся полиповидностью стромы [Porubova Y.P., 2012].

Существующие подходы к терапии хронического эндометрита весьма разнообразны и нередко носят эмпирический характер. Существенной проблемой, снижающей эффективность любых лекарственных воздействий, является значительная выраженность локальных процессов склерозирования тканей и нарушения микроциркуляции. Во многие схемы лечения включается антибактериальная терапия, без учета того, что подтверждение присутствия инфекционного агента в ткани с использованием стандартных микробиологическое или молекулярно-биологических методов не всегда возможно. Кроме сложности выявления возбудителя и необходимости эмпирического подбора антибактериальной терапии существенную проблему представляет широко распространенная антибиотикорезистентность современных возбудителей [Ward E., 2016; Haggerty C.L., 2016; Cicinelli E., 2015; Cicinelli E., 2014; Rivasi F., 2007; Thurman A.R., 2007; Crossman S.H., 2006; Scrimin F., 2010; Кулаков В.И.,

2005]. В курс терапии хронического эндометрита традиционно предлагается включать протеолитические ферменты, физиотерапевтические процедуры [Мартынов С.А., 2007; Серов В.Н., 2006; Гайдарова А., 2014; Назаренко Т.А., 2007; Кулаков В.И., 2005; Troshina N.A., 2015]. В настоящее время считается патогенетически обоснованным в комплексном лечении хронического эндометрита использовать иммунокорректирующие препараты [Гусева Ж., 2006; Сизякина Л.П., 2010; Кажина М.В., 2004; Шуршалина А.В., 2006]. С целью коррекции аутоиммунных процессов в эндометрии предлагаются методы экстракорпоральной гемокоррекции (гемосорбция, плазмаферез) [Чайка В.К., 2005; Серова О.Ф., 2008]. Весьма актуальным при лечении больных с хроническим эндометритом считается восстановление гемодинамики и рецептивности эндометрия. С этой целью применяются различные метаболически активные вещества, гормональная терапия, витаминотерапия, фитотерапия, санаторно-курортное лечение [Трунченко Н.В., 2014; Серов В.Н., 2010; Котиков А.Р., 2005; Фадеева Н.И., 2011]. Актуальные нормативно-методические документы, регулирующие подходы к терапии воспалительных заболеваний женских половых органов, предусматривают проведение длительного многоэтапного лечения хронического эндометрита [Манухин И.Б., 2009; Савельева Г.М., 2009]. Однако зачастую даже комплексное лечение с применением обозначенных компонентов терапии не обеспечивает желаемого результата в виде восстановления нормальной морфофункциональной структуры эндометрия и создания адекватных условий для имплантации бластоцисты [Conway D.A., 2010; Ruiz-Alonso M., 2013].

Для разработки эффективных патогенетических методов терапевтического воздействия на повреждённую ткань эндометрия

необходимо детальное изучение клинико-морфологических характеристик хронического воспалительного процесса в эндометрии. Именно этим целям служит экспериментальное воспроизведение характерной воспалительной реакции слизистой оболочки матки в ответ на действие повреждающих факторов разной природы.

Экспериментальное моделирование патологических состояний эндометрия у лабораторных животных связано с проблемой выбора повреждающего агента и способа реализации его действия. Кроме того, существует необходимость соответствия морфологии смоделированных изменений гистологическим характеристикам эндометрия пациенток с выбранной нозологией.

Различные физические, химические и биологические факторы вызывают в эндометрии изменения, клинические и морфологические характеристики которых не всегда соответствуют аналогичным показателям при патологии эндометрия у женщин. Возможно, по этой причине в научной литературе нет достаточного количества работ по экспериментальному моделированию разной природы повреждений слизистой оболочки матки. Старковой Е.В. с соавторами описана процедура моделирования воспаления половых органов животных путем инокуляции суспензии культуры *Staphylococcus aureus* под слизистую средней трети задней стенки влагалища [Старковой Е.В., 1984]. Rogan D. в качестве метода создания экспериментального хронического эндометрита предложил использовать однократную инстилляцию туберкулина в полость матки [Rogan D., 2007]. Многие исследователи использовали модели повреждения эндометрия, полученные в результате введения в полость матки или предварительно изолированный маточный рог различных флогогенных агентов [Гармашева Н.Л., 1947; Маринкин, И.О., 1996; Самородинова, Л.А., 1965; Тихоновская О.А., 1986].

Экспериментальной моделью эндометрита также могут служить посткоитальные и послеродовые изменения слизистой матки животных [Büchi S., 1991; Sokkarm S.M., 1980; Gabler C., 2010; Moller B.R., 1970; Kaeoket K., 2001]. В работе по изучению терапевтических возможностей стволовых клеток Ding L. и соавторы моделировали повреждение эндометрия путем резекции участка 1,5x0,5 см маточного рога экспериментального животного через все его слои. Наблюдение за моделируемыми процессами проводилось путем выведения части экспериментальных животных на 3, 7, 14, 30 и 90 дни после операции [Ding L., 2014]. Отсутствие возможности продленного наблюдения за процессами стимулированной или естественной репарации поврежденных тканей, несомненно, является главным недостатком данной модели.

У большинства из описанных экспериментальных моделей существует ряд недостатков, главным из которых является невозможность контролирования степени повреждения ткани эндометрия и поэтапного мониторинга течения воспалительного процесса. Кроме того, морфологические изменения, вызываемые бактериальными и химическими факторами, в большей степени соответствуют островоспалительной реакции с усилением макрофагальной активности и отсутствием аутоиммунного компонента в патогенезе воспаления.

Создание экспериментальной модели заболевания эндометрия, обеспечивающей характерные для хронического эндометрита морфологические изменения, требует всестороннего понимания причин, а также особенностей течения воспаления в ткани эндометрия в современных условиях. Наиболее частой причиной развития воспалительных изменений в ткани эндометрия является инфекционный фактор [Манухин И.Б., 2009; Kitaya K., 2011]. В генезе эндометрита в

настоящее время преобладает роль условно-патогенных микроорганизмов, а также бактериальных и бактериально-вирусных ассоциаций [Кулаков В.И., 2005; Kitaya K., 2011; Smith M., 2010]. Кроме того, триггером для развития хронического эндометрита в современной клинической практике нередко служат внутриматочные контрацептивы или операционные процедуры с использованием современных хирургических энергий (электрохирургическое или лазерное воздействие на эндометрий) [Кузнецова А.В., 2000; Кулаков В.И., 2005; Gurtcheff S.E., 2003; Vilos G.A., 1996; Ferryman S.R., 1992; Clark I.W., 1992; Antonova L.V., 1990; Jones R.L., 2000].

С учетом особенностей описанных выше методов воспроизведения воспаления внутренних половых органов животных в эксперименте, их достоинств и недостатков, можно сформулировать требования к модели хронического эндометрита. Прежде всего, модель должна быть воспроизводима на лабораторном животном среднего размера. Необходим легкий доступ к изучаемой ткани для динамического изучения моделируемых процессов. Вследствие того, что длительное течение хронического эндометрита зачастую обусловлено дисбалансом про- и противовоспалительных факторов, развитием аутоиммунных процессов и не всегда поддерживается длительной персистенцией инициирующего воспаления агента, использование в качестве флогогенных факторов бактерий, вирусов и простейших не обязательно. Основным условием является наличие самоподдерживающегося воспаления с наличием аутоиммунных процессов.

Выбор повреждающих факторов в процессе создания модели проводился с учётом особенностей условий возникновения и течения патологического процесса в ткани эндометрия в клинической практике. Изучение механического, электрохирургического и лазерного

воздействий на ткань эндометрия является актуальным для современной клинической практики. Технология воспроизведения подобного рода воздействий позволяет регулировать степень повреждения и вызывать прогнозируемые патологические изменения в тканях. В связи с этим, для создания модели хронического эндометрита в качестве повреждающих факторов выбраны механическое, электрохирургическое и лазерное воздействия.

При изучении морфологических характеристик эндометрия экспериментального животного необходимо учитывать строгую гормональную зависимость любых процессов, происходящих в ткани эндометрия, особенно связанных с процессами пролиферации. В связи с этим, планирование эксперимента на репродуктивных органах животных необходимо производить с учетом динамики эстрального цикла. В ряде экспериментальных работ в качестве метода, позволяющего контролировать гормональный фон экспериментального животного и тем самым прогнозировать изменения, происходящие в половых органах, используется фоновая терапия препаратами эстрогенов, так называемая эстрогенизация животных. Показано, что включение эстрогенов в протокол подготовки экспериментального животного, обеспечивает морфологические изменения ткани эндометрия, характеризующиеся повышенным пролиферативным потенциалом [Савинов П.А., 2006]. С пролиферативным эндометрием технически проще работать, ткань легче выделяется, а перитонеальные имплантаты аутологичного эндометрия эстрогенизированных животных лучше приживляются [Савинов П.А., 2006]. В исследовании, посвященном возможностям клеточных технологий в терапии синдрома Ашермана показано, что фоновая терапия эстрогенами в качестве дополнения к основному методу лечения позволяет добиться более выраженной и стойкой репарации ткани

эндометрия [Kilic S., 2014]. При планировании экспериментального исследования по изучению течения воспаления в ткани эндометрия необходимо, кроме прочего, учитывать, что на различных стадиях эстрального цикла локальные иммунологические и морфологические реакции эндометрия в ответ на флогогенный фактор могут различаться. Экспериментально доказано, что максимальная резистентность ткани эндометрия к инфекционному агенту формируется в стадии эструса, который характеризуется максимальным уровнем синтеза эндогенных эстрогенов [de Winter P.J., 1994]. Имеющиеся экспериментальные данные позволяют заключить, что включение гормональной терапии в протокол предоперационной подготовки модельного животного является неотъемлемой частью планирования эксперимента.

2. Материалы и методы

2.1. Материалы исследования

Исследование проводилось на 40 половозрелых самках кроликов породы Шиншилла. Средняя масса тела животных составляла 2,5-3,5 кг, средний возраст - 1-2,5 года. Животные содержались в условиях искусственного освещения (12-часовой световой день) и сбалансированного свободного вскармливания с неограниченным доступом к воде. Все работы с животными проводились в соответствии с приложением 3 к приказу МЗ СССР №755 от 10.08.1977 и рекомендациями, содержащимися в директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г о защите животных, используемых для научных целей.

Основанием для выбора экспериментального животного явился достаточный объем брюшной полости кролика, который позволяет не только применять различные хирургические доступы (в том числе малоинвазивные), но и проводить повторные операционные вмешательства, использовать методы визуальной оценки хода эксперимента, а также неоднократно производить забор тканей для морфологического и других исследований.

Экспериментальные животные были разделены на группы в зависимости от используемого повреждающего фактора. Механическое (n=10), лазерное (n=5) и электрохирургическое (n=5) воздействия применялись по отношению к имплантату эндометрия, полученному путем стандартизированной процедуры имплантации участка аутологичного эндометрия на париетальную брюшину передней брюшной стенки животного.

2.2. Методы исследования

Работа представляет собой экспериментальное исследование на модельных животных среднего размера (кролик) с использованием визуализирующих и морфологических методов, а также приемов статистического анализа.

2.2.1. Операционная процедура

Раскрытие основных задач исследования подразумевалось через динамическое наблюдение за изменениями ткани эндометрия под влиянием различных повреждающих факторов. В связи с техническими сложностями, сопровождающими наблюдение за состоянием эутопического эндометрия у кроликов (отсутствие технической возможности проведения у кроликов внутриматочных манипуляций под контролем оптики), исследование проводилось на перитонеальных имплантатах аутологичного эндометрия [Айламазян Э.К., 2012; патент на изобретение RU 2533739].

После обработки операционного поля под тиопенталовым наркозом (30-40 мг/кг внутримышечно) выполнялась нижнесрединная лапаротомия длиной 6 см без отграничения подкожно-жировой клетчатки. После гемостаза проводилось отграничение полости брюшины салфетками при помощи зажимов Микулича. Петли тонкой кишки укутывались теплыми влажными марлевыми салфетками. Выполнялось выделение правого маточного рога и при помощи ножниц производилась резекция на протяжении 3 см без перитонизации концов маточного рога. Гемостаз осуществлялся перевязкой дистального и проксимального конца маточного рога и широкой связки матки капроновой нитью. Полость удалённого рога матки вскрывалась путём продольного рассечения ножницами. Разрез выполнялся на стороне, противоположной прикреплению широкой связки матки. Интактный участок эндометрия из

центра препарата отделялся острым способом при помощи лезвия. Далее формировались четыре фрагмента ткани эндометрия размером 2x3 мм каждый. Фрагменты эндометрия подшивались к париетальной брюшине передней брюшной стенки. Местом фиксации был участок интактной брюшины справа и слева от операционной раны на расстоянии 2 см от краев раны. Фрагменты эндометрия подшивали попарно на расстоянии 2 см друг от друга с каждой стороны. Способ фиксации фрагментов эндометрия к париетальной брюшине различался в группах животных в зависимости от используемого повреждающего фактора.

Животным, относящимся к группе с механическим повреждающим фактором (10 кроликов), подшивание фрагментов эндометрия к париетальной брюшине кролика проводилось с использованием общехирургической техники (общехирургических инструментов, иглодержателя для атравматических игл, атравматического синтетического нерассасывающегося однониточного шовного материала 4/0). Швы фиксировали с помощью трёх узлов по углам имплантата эндометрия. Механический повреждающий фактор при использовании общехирургической техники основан на применении шовного материала, создающего объёмное давление в зоне хирургических узлов.

В группе животных, повреждение имплантатов у которых планировалось проводить лазерным воздействием (5 кроликов), фрагмент эндометрия, полученный в ходе стандартной операционной процедуры, с целью исключения повреждающего действия механического фактора фиксировался к брюшине с применением микрохирургических инструментов (иглодержатель для микрохирургических игл и микрохирургический анатомический пинцет, атравматический синтетический нерассасывающийся монофиламентный шовный материал 9/0). В группе животных с применением электрохирургического

воздействия в качестве повреждающего фактора фрагменты эндометрия (5 кроликов), полученные в ходе стандартной операционной процедуры, фиксировались к париетальной брюшине также с применением микрохирургической техники.

После проверки гемостаза и удаления отграничивающих салфеток, рана послойно ушивалась с наложением на кожу шелковых швов по Донати.

В послеоперационном периоде все животные с целью профилактики послеоперационных осложнений получали антибиотики (50 мг/кг/сут цефтриаксона) в течение 5 суток. Кожные швы снимали на 7 сутки после операции при условии отсутствия признаков воспаления в области послеоперационных швов.

2.2.2. Эстрогенизация экспериментальных животных

С целью оценки влияния гормонального фона животного на течение эксперимента, а также для стимуляции процессов имплантации части животным (n=10) проводилась предоперационная эстрогенизация животных [Савинов П.А., 2006; Савицкий Г.А., 2002; Schenken, R.S., 1980; Vernon M.W., 1990]. Схема предоперационной эстрогенизации: 5 инъекций 1,0 мл 0,1% синестрола в мышцы заднего отдела бедра через день, начиная за 7 дней до планируемой операции и инъекция в день операции. Распределение экспериментальных животных на группы в зависимости от использованных повреждающих факторов и особенностей предоперационной подготовки представлено в таблице 2.1.

Таблица 2.1.

Суммарная характеристика особенностей операционного протокола животных экспериментальных групп

	Имплантация с использованием общехирургической техники и приемов	Имплантация с использованием микрохирургической техники и приемов	
	n, количество животных		
Отсутствие эстрогенизации	10	10	
Пред- и послеоперационная эстрогенизация	10	5	5
Повреждающий фактор	Механическое воздействие	Электрохирургическое воздействие	Лазерное воздействие

Всем животным, получившим предоперационную эстрогенную терапию (n=10), в послеоперационном периоде для стимуляции приживления фиксированных фрагментов эндометрия производилась дополнительная эстрогенизация 0,1% синестролом. Схема послеоперационной эстрогенизации: 3 инъекции 1,0 мл 0,1% синестрола в мышцы заднего отдела бедра через день, начиная со 2 дня послеоперационного периода.

2.2.3. Эндоскопическое исследование (обзорная лапароскопия)

На 7 сутки после имплантации животным всех групп производилось лапароскопическое вмешательство с целью макроскопической оценки состояния имплантатов, производства дополнительного лазерного и электрохирургического воздействия на имплантаты, фиксированные к брюшине с использованием микрохирургических техник, а также забора

части имплантатов для микроскопического исследования. После соответствующей обработки операционного поля под тиопенталовым наркозом (30-40 мг/кг внутримышечно) выполнялась минилапаротомия длиной 2,5 см по средней линии передней брюшной стенки на 1 см отступя от верхнего конца послеоперационного рубца. Через разрез в брюшную полость вводили лапароскоп (Karl Storz, Германия). Последовательно производились осмотр органов брюшной полости и оценка макроскопического состояния имплантатов эндометрия, фиксированных к париетальной брюшине. При визуальной оценке состояния имплантатов учитывались следующие характеристики: степень возвышения имплантата над поверхностью брюшины, выраженность гиперемии, наличие и распространенность спаечного процесса и кровоизлияний. Количественная оценка учитываемых изменений производилась по шкале от 0 до 5 баллов, где 0 – отсутствие признака; 1 – признак выражен слабо; 2 – признак выражен умеренно, изменения регистрируются в менее 50% имплантатов; 3 – признак выражен умеренно, изменения регистрируются в большинстве имплантатов; 4 – признак выражен значительно, изменения регистрируются в менее 50% имплантатов; 5 – признак выражен значительно, изменения регистрируются во всех имплантатах.

Имплантаты эндометрия, фиксированные к брюшине с использованием микрохирургической техники, подвергались процедуре повреждения с использованием лазерного (5 животных) и электрохирургического (5 животных) воздействия. Далее операционный доступ расширялся и проводилась эксцизионная биопсия в пределах неизмененных тканей части интактных имплантатов и имплантатов непосредственно после лазерного и электрохирургического воздействия.

В группе животных, повреждение имплантатов у которых планировалось проводить с использованием энергии лазера (5 кроликов), в ходе лапароскопического вмешательства производилось лазерное воздействие на имплантат (мощность излучения 2 Вт, длина волны лазерного излучения - 980 нм) в непрерывном режиме с последующим поверхностной лазерной вапоризацией до визуально контролируемого испарения имплантата. Время экспозиции составляло 3-5 секунд. В группе животных с использованием электрохирургической энергии в качестве повреждающего фактора в ходе лапароскопии производилось воздействие на имплантаты эндометрия электрическим током высокой частоты в монополярном режиме при мощности 10 Вт, частоте тока 440 кГц.

Рану послойно ушивали с наложением на кожу шелковых швов по Донати. В послеоперационном периоде всем экспериментальным животным с целью профилактики послеоперационных осложнений применяли антибиотики (цефтриаксон в дозе 50 мг/кг/сут) в течении 5 суток. Забор тканей эндометрия, подвергшихся действию повреждающего фактора, производился на 14 день после процедуры имплантации после выведения животных путем передозировки тиопенталом натрия.

2.2.4. Морфологическое исследование

Резецированные образцы ткани подвергались фиксации в забуференном 10% нейтральном формалине и обрабатывались по общепринятой методике [Меркулов Г.А., 1961]. Парафиновые срезы толщиной 5,0 мкм для последующего микроскопического исследования окрашивались гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование проводилось с использованием микроскопов Carl Zeiss

(Австрия) и Микмед (Россия). При микроскопии использовали 200-кратное увеличение. Производилась оценка следующих признаков: присутствие в имплантате стромального и железистого компонентов, выраженность отека стромы, наличие и распространенность кровоизлияний и лейкоцитарных инфильтратов. Отдельное внимание уделялось признакам инвазии эндометриальных элементов в подлежащие ткани: величине и равномерности промежутка между имплантатом и брюшиной, а также степени замещения ткани эндометрия в имплантате соединительной тканью. Количественная оценка учитываемых изменений производилась по шкале от 0 до 5 баллов, где 0 – отсутствие признака; 1 – признак выражен слабо; 2 – признак выражен умеренно, изменения занимают до 40% объема ткани имплантата; 3 – признак выражен умеренно, изменения занимают бóльшую часть объема ткани имплантата; 4 – признак выражен сильно, изменения занимают до 40% объема ткани имплантата; 5 – признак выражен значительно, изменения захватывают весь объем ткани имплантата.

2.2.5. Статистические методы

Статистическая обработка результатов выполнялась на персональном компьютере с использованием стандартного пакета «Microsoft Excel 2016» и пакета прикладных программ «Statistica for Windows» версия 8.0, StatSoft Inc. (США). В ходе статистической обработки использовались методы параметрического и непараметрического анализа. Были использованы традиционные показатели описательной статистики: число наблюдений (n), среднее арифметическое (M), среднее квадратичное отклонение (s), средняя ошибка средней арифметической ($\pm m$). Статистическая значимость различий рассчитывалась с использованием U-критерия Манна-Уитни.

Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$ (95%-уровень значимости) [Реброва, О.Ю., 2006; Герасимов А.Н., 2007].

3. Результаты

3.1. Комплексная характеристика имплантатов аутологичного эндометрия неэстрогенизированных животных

3.1.1. Характеристика имплантатов, фиксированных с использованием общехирургической техники

Оценка состояния имплантатов аутологичного эндометрия производилась визуально в ходе обзорной лапароскопии, проводимой на 7 сутки после имплантации, а также с использованием морфологического исследования. У животных без предварительной эстрогенизации имплантаты, фиксированные к брюшине с использованием общехирургической техники (совокупность хирургических приемов которой обеспечивала механическое повреждение ткани), на обзорной лапароскопии на 7 день после первой операции имели следующие характеристики:

- Форма: незначительно возвышающиеся под поверхностью брюшины фрагменты ткани ($1,9 \pm 0,18$ балла);
- Цвет: неравномерно белесоватый;
- Гиперемия: выраженная по всей области имплантации ($4,1 \pm 0,18$ балла);
- Спаечный процесс: пленки фибрина на 25 – 50% имплантатах, в 50% наблюдений - спайки между петлями тонкого и толстого кишечника и поверхностью имплантатов эндометрия ($3,0 \pm 0,15$ балла);
- Кровоизлияния: единичные кровоизлияния под брюшину в проекции зоны имплантации, различные по форме, размерами до 3 мм ($2,1 \pm 0,1$ балла).

На 7 день после процедуры имплантации, после визуальной оценки состояния имплантатов, производилась резекция части имплантатов для проведения морфологического исследования. Имплантаты эндометрия, полученные от животных, не получавших гормональной стимуляции,

фиксация которых производилась с использованием приемов общехирургической техники, имели следующие морфологические характеристики:

- Стромальный компонент: эндометриальная строма в состоянии дистрофии ($4,2 \pm 0,25$ балла), наблюдается выраженный отек клеток стромы и межуточного вещества с увеличением межклеточных промежутков и выраженным снижением тинкториальных свойств тканевого компонента ($4,2 \pm 0,2$ балла);
- Железистый компонент: выражен незначительно, в просвете эндометриальных желез – слущенные эпителиальные клетки ($2,3 \pm 0,21$ балла);
- Кровоизлияния в толщу имплантата: в большом количестве, в сочетании с кровоизлияниями в соседние ткани, особенно в зоне контакта с шовным материалом ($4,1 \pm 0,23$ балла);
- Лейкоцитарная инфильтрация: умеренно выраженная инфильтрация сегментоядерными лейкоцитами, распространяющаяся в том числе и на подлежащие ткани, с максимальной концентрацией лейкоцитов в зоне, непосредственно контактирующей с шовным материалом ($4,0 \pm 0,21$ балла);
- Промежуток между тканью имплантата и подлежащей брюшиной: выраженный, признаки инвазии эндометриальных элементов под брюшину отсутствуют ($4,8 \pm 0,13$ балла).

На 14 сутки после процедуры имплантации, у животных, не получавших гормональной терапии, имплантаты, фиксированные с использованием общехирургической техники, имели следующие макроскопические характеристики:

- Форма: ткань эндометрия не дифференцируется среди других тканей зоны имплантации ($0,2 \pm 0,13$ балла);

- Цвет: неотличим от окружающих тканей на фоне выраженной гиперемии;
- Гиперемия: равномерно интенсивная по всей зоне имплантации ($3,8 \pm 0,13$ балла);
- Спаечный процесс: локально выраженный, с утолщенными спайками между петлями тонкого и толстого кишечника и париетальной брюшиной зоны имплантации с деформацией передней брюшной стенки ($4,1 \pm 0,18$ балла);

Морфологические изменения имплантатов эндометрия от животных, не получавших гормональной терапии, фиксация которых производилась общехирургическими приемами, на 14 день после процедуры имплантации имели следующие характеристики:

- Стромальный компонент: скудно выраженный, в виде отдельных островков ($2,2 \pm 0,2$ балла); замещение части эндометриальной ткани рыхлой соединительной тканью ($3,0 \pm 0,26$ балла);
- Железистый компонент: отсутствует ($0,2 \pm 0,13$ баллов);
- Инфильтрация: повсеместная макрофагальная инфильтрация остатков ткани эндометрия и подлежащих тканей, выраженная особенно в области шовного материала ($4,8 \pm 0,13$ балла);

В ходе наблюдения за реакцией ткани аутологичного эндометрия, имплантированного с использованием общехирургических приемов на париетальную брюшину неэстрогенизированных животных показано, что в ответ на хроническое повреждение (механический фактор) в имплантированном эндометрии развивается ярко выраженная воспалительная реакция, которая при последующем наблюдении реализуется в локальный фиброз и лизис большей части эндометриальной ткани.

3.1.2. Характеристика имплантатов, фиксированных с использованием микрохирургической техники

Оценка состояния имплантатов, фиксированных с использованием микрохирургической техники, на париетальную брюшину неэстрогенизированных крольчих, проводилась в ходе обзорной лапароскопии и морфологического исследования, проводимых на 7 и 14 день после процедуры имплантации. В ходе обзорной лапароскопии на 7 день после имплантации имплантаты имели следующие характеристики:

- Форма: правильная, ткань имплантата возвышается над поверхностью брюшины ($4,7 \pm 0,15$ балла);
- Цвет: бледно-розовый;
- Гиперемия: незначительная, неравномерно выраженная ($2 \pm 0,21$ балла);
- Спаечный процесс: отсутствует во всех наблюдениях ($0,2 \pm 0,13$ баллов);
- Кровоизлияния: отсутствуют ($0,1 \pm 0,1$ баллов).

Морфологическое исследование имплантатов, имеющих вышеописанные макроскопические характеристики, выявило следующие изменения:

- Стромальный компонент: эндометриальная строма в состоянии дистрофии ($4,8 \pm 0,13$ балла), наблюдается отек межуточного вещества стромы ($3,0 \pm 0,21$ балла);
- Железистый компонент: выражен скудно, железы со сращенным в просвет эпителием ($1,0 \pm 0,3$ балла);
- Кровоизлияния в толщу имплантата: отсутствуют, имеются незначительные кровоизлияния в подлежащие ткани в зоне, непосредственно контактирующей с шовным материалом ($0,9 \pm 0,18$ балла);
- Лейкоцитарная инфильтрация: ткань имплантата и подлежащие ткани инфильтрированы сегментоядерными лейкоцитами ($3,1 \pm 0,23$ балла);

- Промежуток между тканью имплантата и подлежащей брюшиной: незначительный, прослеживается не по всей длине имплантата ($1,9 \pm 0,18$ балла), имеются участки инвазии эндометриальных элементов под мезотелий брюшины.
- Поверхность имплантата эндометрия покрыта клетками мезотелия брюшины.

Обзорная лапароскопия, выполненная на 14 день после процедуры имплантации у животных без предварительной эстрогенизации и фиксации имплантатов с использованием микрохирургической техники, выявила следующие изменения в характеристиках имплантатов:

- Форма: правильная, ткань имплантата не возвышается над поверхностью брюшины ($1,1 \pm 0,28$ балла);
- Гиперемия: незначительная, ограниченная зоной имплантации ($0,9 \pm 0,23$ балла);
- Спаечный процесс: преимущественно отсутствует ($0,3 \pm 0,15$ баллов);
- Кровоизлияния: отсутствуют (0 баллов).

Морфологически в описанных имплантатах были зафиксированы следующие изменения:

- Стромальный компонент: представлен в виде небольших объемных участков богатой клетками стромы, находящейся в состоянии дистрофии ($2,9 \pm 0,28$ балла), по периферии имплантата наблюдается незначительное разрастание рыхлой соединительной ткани ($0,9 \pm 0,23$ баллов);
- Железистый компонент: представлен единичными эндометриальными железами ($0,8 \pm 0,2$ баллов);
- Кровоизлияния в толщу имплантата и подлежащие ткани: отсутствуют (0 баллов);

- Лейкоцитарная инфильтрация: слабо выраженная преимущественно полиморфноклеточная инфильтрация окружающих имплантат тканей (2,3±0,26 балла);
- На всем протяжении эндометриального имплантата прослеживается брюшинный покров.

Таким образом, наблюдение за состоянием эндометриальных имплантатов, фиксированных с использованием микрохирургических приемов на брюшину неэстрогенизированных животных, показало, что использование микрохирургической техники без дополнительных повреждающих воздействий по отношению к ткани эндометрия обеспечивает невыраженные воспалительные изменения в ткани имплантата. При последующем мониторинге было установлено, что смоделированные изменения ткани эндометрия имеют склонность к обратному развитию, т.е. не являются стабильными.

3.2. Комплексная характеристика имплантатов аутологичного эндометрия эстрогенизированных животных

3.2.1. Результаты процедуры имплантации с использованием общехирургической и микрохирургической операционных техник.

Изменения имплантатов аутологичного эндометрия, фиксированных с использованием общехирургической техники (совокупность хирургических приемов которой обеспечивала механическое повреждение ткани) оценивались визуально в ходе обзорной лапароскопии, а также с использованием морфологического исследования участков резецированной ткани. Обзорная лапароскопия на 7 день после процедуры имплантации выявила следующие изменения имплантатов:

- Форма: округлые имплантаты, возвышающиеся над брюшиной в виде приплюснутой полусферы ($4,1 \pm 0,18$ балла);
- Цвет: бледно-розовый;
- Гиперемия: ярко выраженная по всей зоне имплантации, с максимальной интенсивностью в тканях, непосредственно контактирующих с шовным материалом ($4,8 \pm 0,13$ балла);
- Спаечный процесс: в 4 случаях наблюдались плоскостные спайки до 2-3 мм между имплантатом и кишкой, а также между париетальной брюшиной и кишкой (средний балл - $3,9 \pm 0,1$).

Морфологическое исследование ткани имплантатов, подверженных воздействию механического характера, иссечение которых производилась на 7 день после начала действия повреждающего фактора, выявило следующие изменения (рисунок 3.1):

- Стромальный компонент: эндометриальная строма в состоянии дистрофии ($4,1 \pm 0,18$ балла), с выраженном отеком межклеточного пространства ($4,7 \pm 0,21$ балла);
- Железистый компонент: железы с местами сращенным в просвет железы эпителием ($4,0 \pm 0,21$ балла);
- Кровоизлияния в толщу имплантата и в окружающие ткани передней брюшной стенки, максимально выраженные в участках ткани, непосредственно контактирующей с шовным материалом ($4,0 \pm 0,26$ балла);
- Лейкоцитарная инфильтрация: повсеместная полиморфноклеточная инфильтрация ткани имплантата и подлежащих тканей, с максимальной концентрацией клеток в зоне, непосредственно прилегающей к шовному материалу ($4,7 \pm 0,15$ балла);
- Промежуток между тканью имплантата и подлежащей брюшиной: неравномерный, в виде узкой щели между тканями ($3,2 \pm 0,2$ балла).

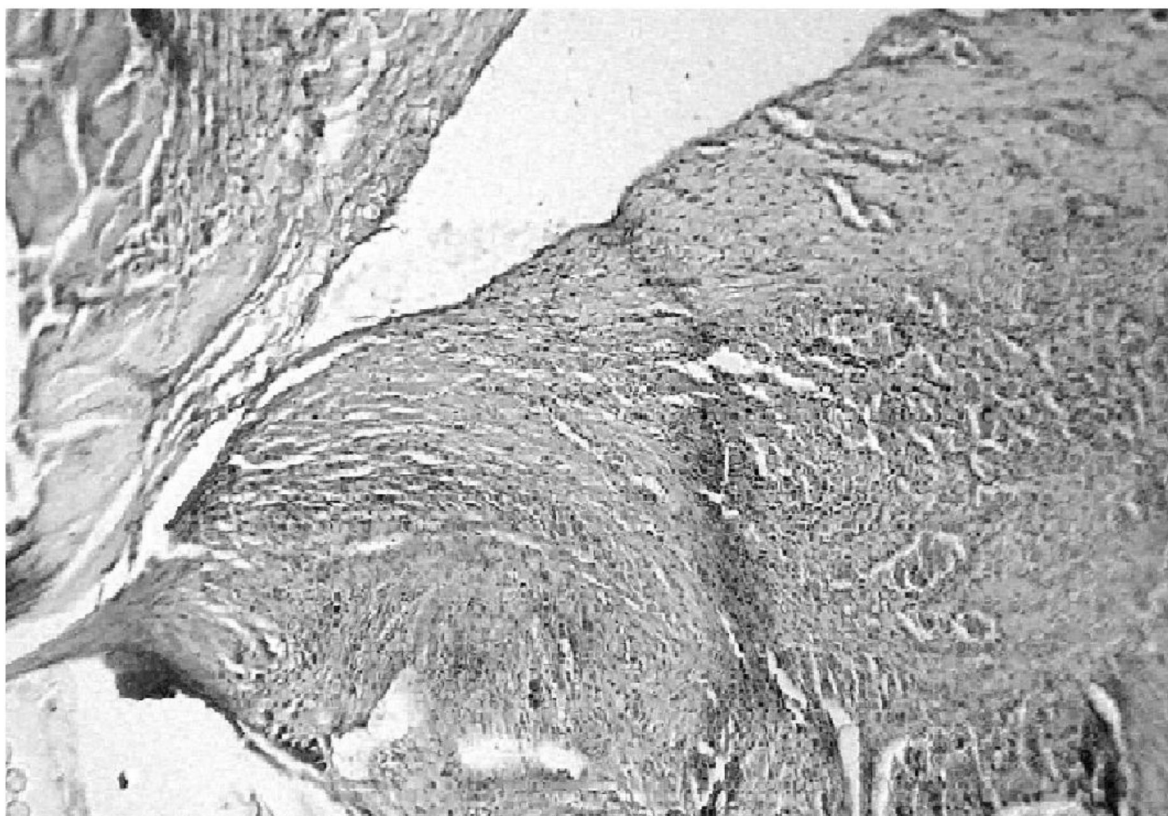


Рисунок 3.1. Морфологическая картина имплантата аутологичного эндометрия через 7 дней после процедуры имплантации с использованием общехирургической техники.

Результаты процедуры имплантации в группе животных с использованием микрохирургической техники оценивались по вышеописанной технологии. На обзорной лапароскопии на 7 день после имплантации имплантаты имели следующие макроскопические характеристики:

- Форма имплантата: округлая, ткань имплантатов возвышается над поверхностью брюшины в виде ровной полусферы ($4,9 \pm 0,1$ балла);
- Цвет имплантата: ярко-розовый;
- Гиперемия: незначительная по всей зоне имплантации и в области наложения швов ($1,9 \pm 0,23$ балла);

- Спаечный процесс: отсутствует ($0,2 \pm 0,13$ баллов);
- Кровоизлияния: отсутствуют как в зоне имплантированных тканей, так и в прилежащих областях ($0,1 \pm 0,1$ баллов).

При морфологическом исследовании образцов имплантатов, фиксированных к брюшине с использованием микрохирургической техники, было обнаружено (рисунок 3.2):

- Стромальный компонент: выражен хорошо ($4,7 \pm 0,21$ баллов), имеется слабо выраженный отек межтучного вещества ($1,0 \pm 0,21$ балла);
- Железистый компонент: выражен хорошо, эндометриальные железы с жизнеспособным неслущенным эпителием; часть эндометриальных желез кистовидно расширена; наблюдается инвазия отдельных желез в мышечный слой передней брюшной стенки ($4,7 \pm 0,15$ баллов);
- Кровоизлияния: отсутствуют ($0,2 \pm 0,13$ баллов);
- Лейкоцитарная инфильтрация: умеренная полиморфноклеточная инфильтрация по периферии имплантатов ($3,1 \pm 0,18$ балла);
- Промежуток между тканью имплантата и подлежащей брюшиной: отсутствует ($0,1 \pm 0,1$ баллов). Над поверхностью имплантата прослеживается брюшинный покров.

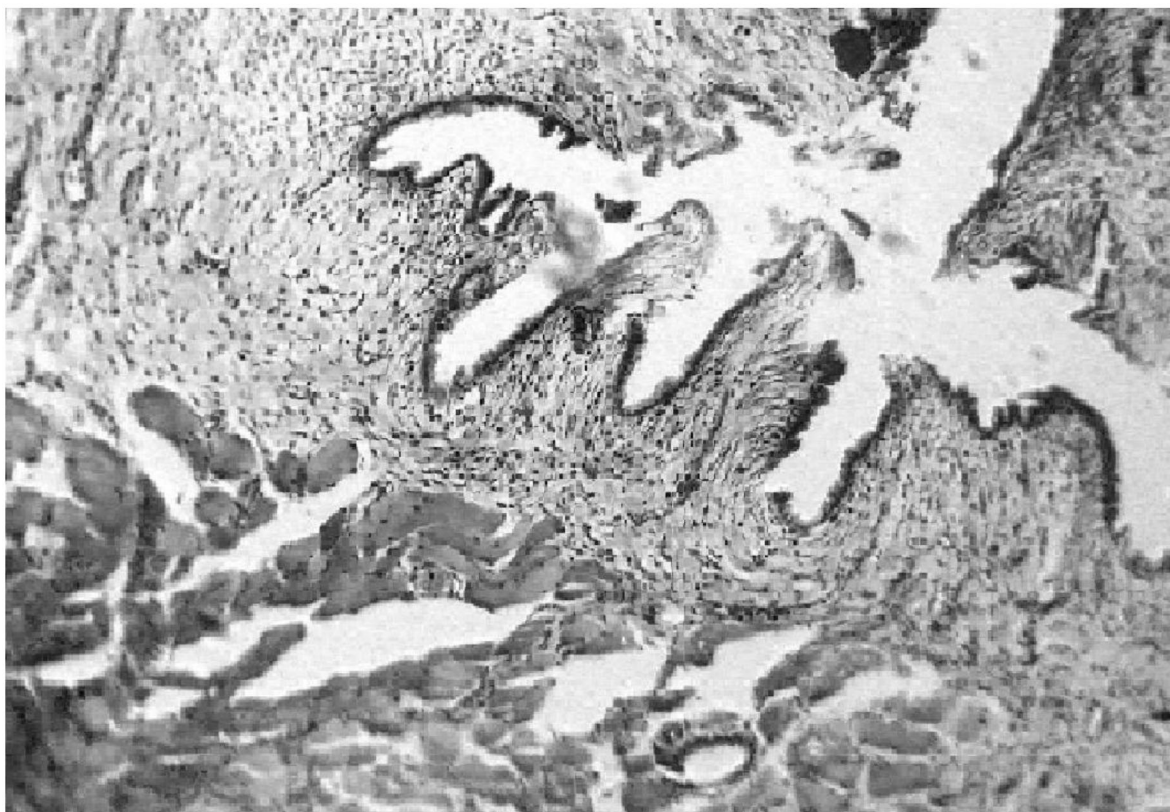


Рисунок 3.2. Морфологическая картина имплантата аутологичного эндометрия через 7 дней после процедуры имплантации с использованием микрохирургической техники.

Общехирургическая или микрохирургическая техники, а именно различия в используемых хирургических инструментах и шовного материала в процессе фиксации ткани эндометрия к брюшине обеспечивают определенный объем операционной травмы. Основными составляющими травматического воздействия являются интраоперационное повреждение ткани в ходе инструментальных манипуляций с имплантируемым участком эндометрия и последующее локальное давление шовного материала на имплантат. Комплексная оценка состояния имплантатов эндометрия на 7 сутки после процедуры имплантации показала, что использование общехирургических приемов в ходе операционной процедуры (использование общехирургических инструментов и атравматического синтетического нерассасывающегося

однониточного шовного материала 4/0) у предварительно эстрогенизированных животных является причиной развития выраженных воспалительных изменений в имплантированном эндометрии. В имплантатах, фиксированных с использованием микрохирургических приемов и инструментов (микрохирургической иглы, микрохирургического анатомического пинцета, атравматического синтетического нерассасывающегося монофиламентного шовного материала 9/0) наблюдалось развитие слабо выраженной воспалительной реакции.

3.2.2. Результаты моделирования в группах после механического, электрохирургического и лазерного воздействия.

В связи с тем, что клеточная реакция ткани имплантатов в ответ на интраоперационное повреждение в группе животных с использованием микрохирургической техники не соответствовала критериям хронического воспалительного ответа ткани эндометрия, операционная процедура имплантации с использованием микрохирургической техники не может рассматриваться в качестве повреждающего фактора. В то же время, комплексный анализ состояния имплантатов на 7 сутки после процедуры имплантации показал, что ткань аутологичного эндометрия, вне зависимости от использованной хирургической техники, успешно приживляется на париетальную брюшину и может быть использована для изучения действия различных повреждающих факторов.

В качестве дополнительного повреждающего фактора по отношению к имплантатам, фиксированных к брюшине с использованием микрохирургической техники, на 7 день после имплантации использовалась лазерная (n=5) и электрохирургическая (n=5) энергии. Часть имплантатов была иссечена непосредственно после лазерного или

электрохирургического повреждения. Их морфологическая характеристика представлена ниже.

Ткань имплантата эндометрия непосредственно после лазерного воздействия представляла собой остатки эндометриальной стромы в состоянии дистрофии с выраженным отеком межклеточного вещества. Сохранившиеся эндометриальные железы находились в состоянии некробиоза. Поверхность имплантата представляла собой недифференцируемую карбонизированную ткань с подлежащими некротическими массами. Наблюдалась дистрофия близлежащих и подлежащих тканей вплоть до мышечных волокон передней брюшной стенки.

В ходе микроскопического исследования образцов имплантатов, иссечение которых производилось непосредственно после электрохирургического воздействия, были выявлены следующие изменения. Зона имплантации представляла собой обширную зону некроза с выраженным отеком и нарушением гистологической структуры близлежащих тканей. Участки жизнеспособной эндометриальной ткани определялись лишь по периферии имплантатов.

В группе животных с использованием общехирургической техники после производимых на 7 день после имплантации интраоперационной оценки состояния имплантатов и резекции части из них дополнительных воздействий на имплантаты не производилось. Обзорная лапароскопия на 14 день после процедуры имплантации осуществлялась с целью динамической оценки состояния имплантатов эндометрия, подвергшимся воздействию механического повреждающего фактора. В ходе лапароскопии были получены следующие данные:

- Форма имплантатов: округлые имплантаты, степень возвышения имплантатов над поверхностью брюшины в динамике немного уменьшалось ($3,0 \pm 0,21$ балла);
- Цвет имплантатов: бледно-розовый, без значительной динамики после обзорной лапароскопии на 7 день после имплантации;
- Гиперемия: ярко выраженная по всей зоне имплантации, без выраженных изменений в степени интенсивности ($4,6 \pm 0,16$ балла);
- Спаечный процесс: утолщение плоскостных спаек между имплантатом и кишкой и между париетальной брюшиной и кишкой ($4,7 \pm 0,15$ балла).

Морфологическое исследование имплантатов, подвергшихся изолированному воздействию механического повреждающего фактора, иссечение которых производилось на 14 день после процедуры имплантации, выявило следующие изменения (рисунок 3.3):

- Стромальный компонент: эндометриальная строма в состоянии дистрофии ($4,0 \pm 0,15$ балла), с выраженном отеком межклеточного пространства ($4,6 \pm 0,22$ балла);
- Железистый компонент: единичные кистовидно-расширенные железы ($1,2 \pm 0,2$ балла);
- Кровоизлияния в толщу имплантата и в окружающие ткани отсутствуют ($0,3 \pm 0,15$ балла);
- Лейкоцитарная инфильтрация: выраженная полиморфноклеточная инфильтрация стромы имплантированного эндометрия и подлежащих тканей ($4,8 \pm 0,13$ балла);
- Промежуток между тканью имплантата и подлежащей брюшиной: отсутствует ($0,3 \pm 0,15$ баллов), пространство по периферии имплантированной ткани заполнено рыхлой соединительной тканью ($2,1 \pm 0,18$ балла).

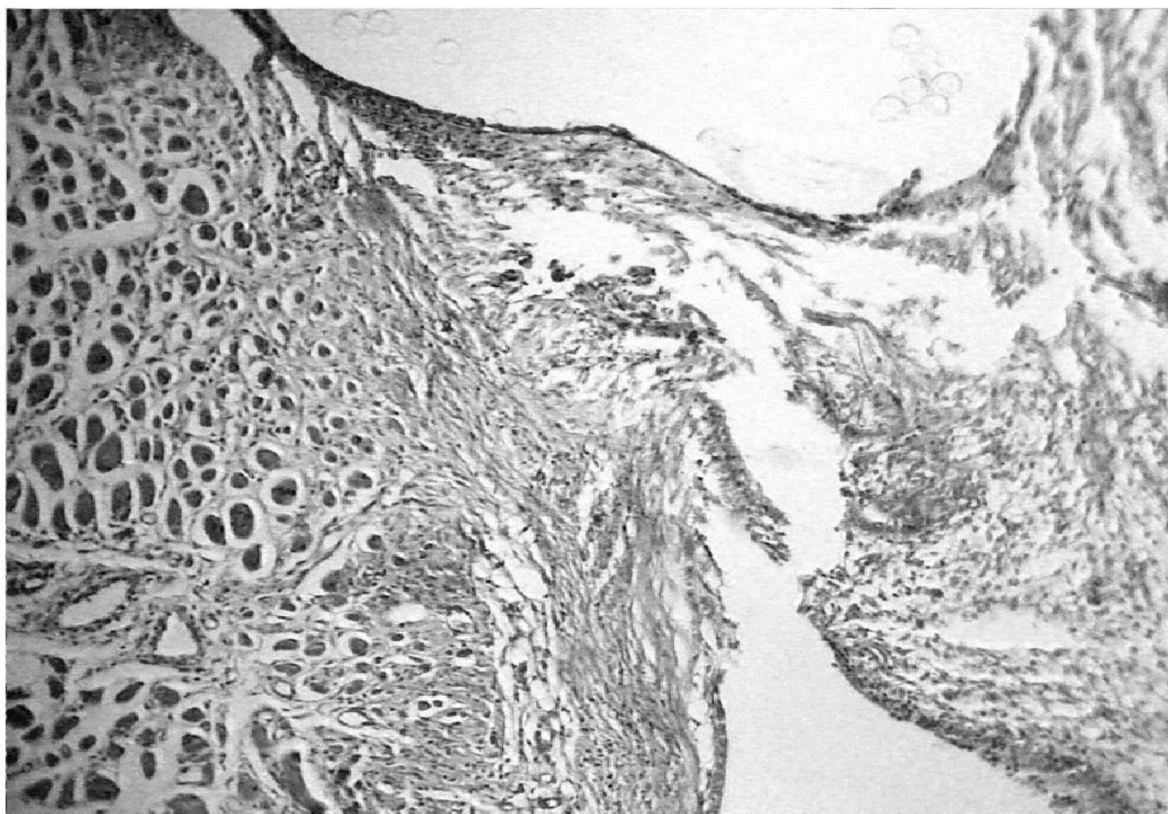


Рисунок 3.3. Морфологическая картина имплантата аутологичного эндометрия через 14 дней после процедуры имплантации с использованием общехирургической техники.

Динамический анализ состояния имплантатов аутологичного эндометрия показал, что процедура моделирования с использованием общехирургической техники, инструменты и приемы которой обеспечивают одномоментное и продленное механическое повреждение ткани, обеспечивает стабильные изменения эндометрия, соответствующие изменениям, наблюдаемым при хроническом эндометрите.

В группах животных, имплантаты эндометрия у которых подвергались дополнительному воздействию с использованием лазерной или электрохирургической энергий, на 14 день после имплантации (7 день после лазеро- или электроповреждения) также производилась обзорная лапароскопия и резекция имплантатов. Макроскопическая

характеристика имплантатов эндометрия на 7 день после стандартизированной процедуры лазерного повреждения:

- Форма имплантатов: правильная, остатки ткани имплантата слегка возвышаются над поверхностью брюшины ($0,6 \pm 0,24$ баллов);
- Гиперемия: ярко выраженная по всей зоне имплантации ($4,8 \pm 0,2$ балла);
- Спаечный процесс: отсутствует ($0,2 \pm 0,2$ баллов);
- Кровоизлияния: отсутствуют (0 баллов).

Морфологическая характеристика имплантатов после дополнительного лазерного воздействия (рисунок 3.4):

- Стромальный компонент: островки эндометриальной стромы в состоянии дистрофии ($1,2 \pm 0,37$ балла), с отеком межклеточного пространства ($4,0 \pm 0,32$ балла);
- Железистый компонент: единичные сохранившиеся железы с дистрофичным железистым эпителием ($0,8 \pm 0,37$ баллов);
- Кровоизлияния: повсеместные в строму имплантата ($4,6 \pm 0,4$ балла);
- Лейкоцитарная инфильтрация: незначительная полиморфноклеточная инфильтрация остатков стромы имплантата и, в меньшей степени, подлежащих тканей ($2,0 \pm 0,32$ балла).
- Поверхность имплантата представлена некротизированными массами.

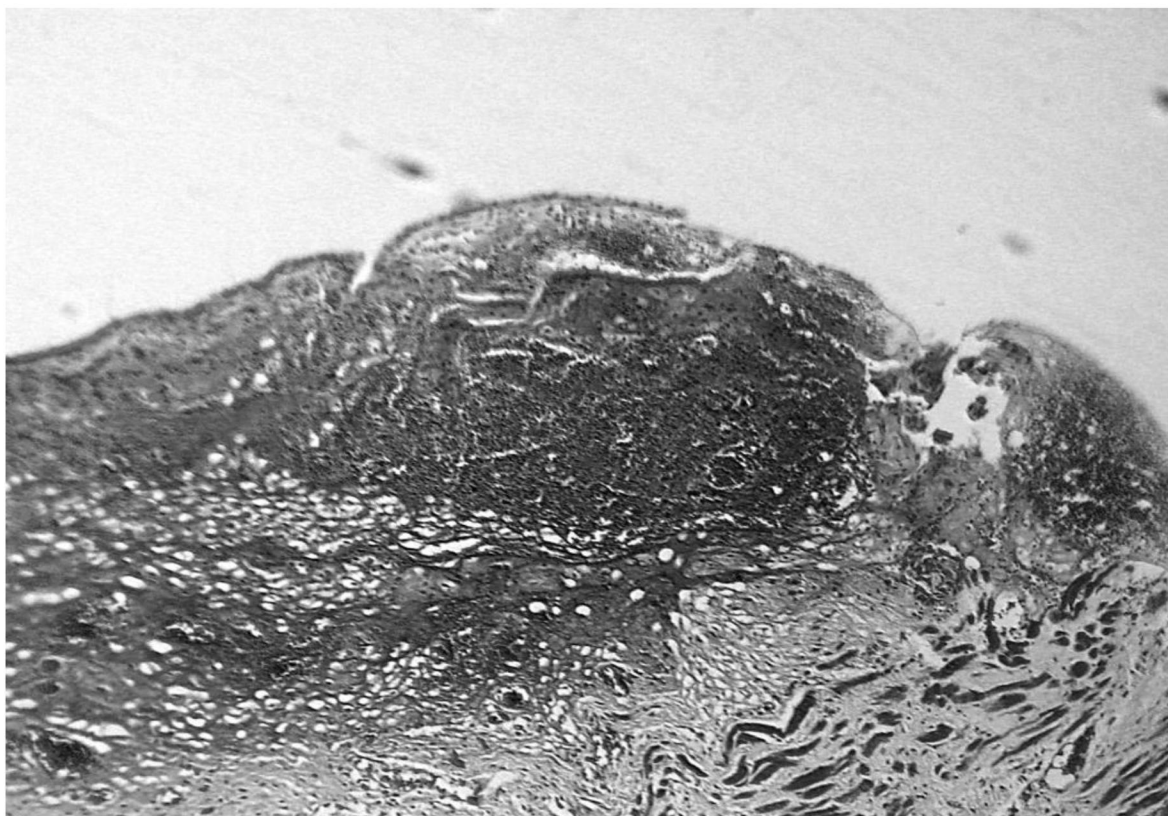


Рисунок 3.4. Морфологическая картина имплантата эндометрия, фиксированного с использованием микрохирургической техники, через 7 дней после лазерного воздействия.

Таким образом, комплексный анализ состояния ткани эндометрия после лазерного повреждения показал, что реакция имплантатов аутологичного эндометрия на лазерное воздействие является нестабильной и непредсказуемой и не соответствует морфологическим изменениям, присущим хроническому эндометриту.

В группе животных после дополнительного электрохирургического воздействия имплантаты аутологичного эндометрия на 14 сутки после процедуры имплантации имели следующие макроскопические характеристики:

- Имплантаты ткани эндометрия представляют собой фрагменты некротизированной ткани, по всей поверхности покрытые тонким налетом фибрина;
- Гиперемия: ярко выраженная по всей зоне имплантации (5,0 баллов);
- Спаечный процесс: отсутствует (0,2±0,2 баллов);
- Кровоизлияния: отсутствуют (0,2±0,2 баллов).

Морфологическое исследование ткани имплантатов после электрохирургического воздействия выявило (рисунок 3.5):

- Большая часть имплантатов представляет собой гомогенную некротическую массу с выраженной повсеместной полиморфноклеточной инфильтрацией;
- Стромальный компонент: представлен участками эндометриальной стромы с дистрофическими изменениями подлежащих тканей (2,2±0,2 балла);
- Железистый компонент: представлен сохранившимися в глубине тканей единичными железами (1,2±0,2 балла);
- Лейкоцитарная инфильтрация: повсеместная умеренная полиморфноклеточная инфильтрация остатков эндометриальной ткани (4,0±0,32 балла);
- Поверхность сохранившихся имплантатов представлена пленками фибрина при полном отсутствии брюшинного покрова в зоне имплантации.

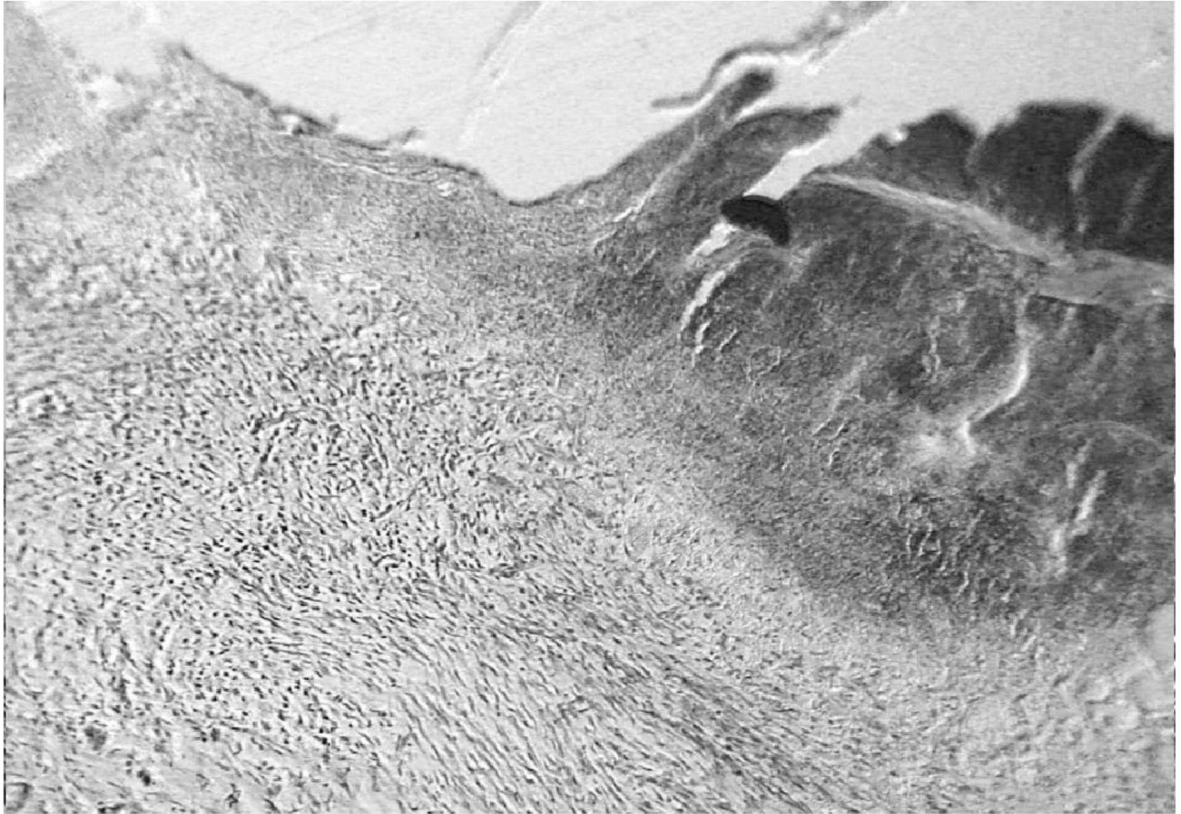


Рисунок 3.5. Морфологическая картина имплантата эндометрия, фиксированного с использованием микрохирургической техники, через 7 дней после электрохирургического воздействия.

Таким образом, изменения, происходящие в имплантате аутологичного эндометрия под действием электрохирургической энергии, по своим макроскопическим и морфологическим характеристикам соответствуют преимущественно островоспалительной реакции эндометрия.

3.3. Сравнительный анализ эффективности моделирования в экспериментальных группах

Сводные данные о макроскопических и морфологических изменениях имплантатов, выраженных количественно в соответствии с используемыми оценочными шкалами, представлены в таблицах 3.1 и 3.2.

Таблица 3.1.

Сводная макроскопическая характеристика перитонеальных имплантатов аутологичного эндометрия (n=40).

Особенности операционной процедуры			День	Выраженность признаков			
Хирургическая техника	Гормональная терапия	Дополнительное повреждающее воздействие		Выбухание имплантатов	Гиперемия	Спаечный процесс	Кровоизлияния
ОХТ	Е (-)		7	1,9±0,18	4,1±0,18	3,0±0,15	2,1±0,1
		-	14	0,2±0,13	3,8±0,13	4,1±0,18	1,7±0,15
	Е (+)	-	7	4,1±0,18	4,8±0,13	3,9±0,1	3,0±0,21
		-	14	3,0±0,21	4,6±0,16	4,7±0,15	2,1±0,18
МХТ	Е (-)	-	7	4,7±0,15	2±0,21	0,2±0,13	0,1±0,1
		-	14	1,1±0,28	0,9±0,23	0,3±0,15	0
	Е (+)	-	7	4,9±0,1	1,9±0,23	0,2±0,13	0,1±0,1
		лазер	14	0,6±0,24	4,8±0,2	0,2±0,2	0
		эл.ток		0	5,0	0,2±0,2	0,2±0,2

Используемые в таблице обозначения:

ОХТ – общехирургическая техника, МХТ – микрохирургическая техника.

Е (-) – без эстрогенизации; Е (+) – на фоне эстрогенизации;

лазер – лазерная энергия; эл.ток – электрохирургическая энергия.

Характеристика степени выраженности признаков:

0 – отсутствие признака; 1 – признак выражен слабо; 2 – признак выражен умеренно, изменения регистрируются в менее 50% имплантатов; 3 – признак выражен умеренно, изменения регистрируются в большинстве имплантатов; 4 – признак выражен значительно, изменения регистрируются в менее 50% имплантатов; 5 – признак выражен значительно, изменения регистрируются в всех имплантатах.

Таблица 3.2.

Сводная морфологическая характеристика ткани перитонеальных имплантатов аутологичного эндометрия.

Особенности операционной процедуры			День	Морфологические признаки							
Хир. техника	Гормон. терапия	Доп. повреждение		Наличие стромального компонента	Отек стромы	Наличие железистого компонента	Кровоизлияния	Лейкоцитарная инфильтрация	Промежуток между имплантатом и подлежащей тканью	Фиброз ткани	
ОХТ	Е(-)	-	7	4,2±0,25	4,2±0,2	2,3±0,21	4,1±0,23	4,0±0,21	4,8±0,13	0,2±0,13	
		-	14	2,2±0,2	3,0±0,21	0,2±0,13	1,9±0,28	4,8±0,13	4,0±0,15	3,0±0,26	
	Е(+)	-	7	4,1±0,18	4,7±0,21	4,0±0,21	4,0±0,26	4,7±0,15	3,2±0,2	0,1±0,1	
		-	14	4,0±0,15	4,6±0,22	1,2±0,2	0,3±0,15	4,8±0,13	0,3±0,15	2,1±0,18	
МХТ	Е(-)	-	7	4,8±0,13	3,0±0,21	1,0±0,3	0,9±0,18	3,1±0,23	1,9±0,18	0,2±0,13	
		-	14	2,9±0,28	1,9±0,18	0,8±0,2	0,2±0,13	2,3±0,26	1,1±0,18	0,9±0,23	
	Е(+)	-	7	4,7±0,21	1,0±0,21	4,7±0,15	0,2±0,13	3,1±0,18	0,1±0,1	0	
		лазер	эл.ток	14	1,2±0,37	4,0±0,32	0,8±0,37	4,6±0,4	2,0±0,32	3,2±0,2	0,2±0,2
					2,2±0,2	0,2±0,2	1,2±0,2	1,0	4,0±0,32	3,0±0,32	0

Используемые в таблице обозначения:

ОХТ – общехирургическая техника, МХТ – микрохирургическая техника;

Е (-) – без эстрогенизации; Е (+) – на фоне эстрогенизации;

лазер – лазерная энергия; эл.ток – электрохирургическая энергия.

Характеристика степени выраженности признаков:

0 – отсутствие признака; 1 – признак выражен слабо; 2 – признак выражен умеренно, изменения занимают до 40% объема ткани имплантата; 3 – признак выражен умеренно, изменения занимают большую часть объема ткани имплантата; 4 – признак выражен сильно, изменения занимают до 40% объема ткани имплантата; 5 – признак выражен значительно, изменения захватывают весь объем ткани имплантата.

Результаты моделирования хронического воспалительного заболевания эндометрия оценивались по жизнеспособности ткани эндометрия после процедуры имплантации, а также по наличию изменений, морфологически соответствующих хронической воспалительной реакции.

Результаты имплантации в группе животных, не получавших фоновой гормональной терапии, отличались от результатов, полученных в группе

эстрогенизированных животных. Уже на 7 день после процедуры моделирования в ходе обзорной лапароскопии было выявлено, что в группе животных, имплантаты которых были фиксированы с использованием общехирургических приемов, гормональная терапия позволяет добиться более выраженной воспалительной реакции в ткани имплантированного эндометрия. Такие макроскопические проявления воспалительного процесса, как гиперемия, спаечный процесс и кровоизлияния были со статистической достоверностью более выражены у модельных животных, получивших терапию эстрогенами ($p=0,006$, $p=0,00009$, $p=0,001$ соответственно). Морфологическое исследование имплантатов, фиксированных с использованием общехирургической техники и резецированных на 7 день после моделирования, также показало более высокую результативность процедуры моделирования в группе животных, получавших гормональную терапию. Имплантаты эстрогенизированных животных имели в своем составе лучше представленный железистый компонент ($p=0,00002$), характеризовались более выраженным отеком и более интенсивной лейкоцитарной инфильтрацией стромы ($p=0,1$ и $p=0,015$ соответственно). По достоверно меньшему промежутку между тканью имплантата и подлежащей брюшиной ($p=0,000003$) можно было судить о лучшей имплантационной способности эндометриальной ткани в условиях фоновой эстрогенизации. Последующее динамическое наблюдение за животными, получившими эстрогены, и животными, не получившими гормональную терапию, выявило нарастание межгрупповых различий в отношении характеристик имплантатов, фиксированных с использованием общехирургических приемов. На 14 день после операции моделирования у эстрогенизированных животных область имплантации была достоверно более сильно гиперемирована ($p=0,001$), наблюдалось большее количество кровоизлияний ($p=0,1$) и более выраженный спаечный процесс ($p=0,02$).

Морфологический анализ также подтвердил, что результаты моделирования в группе с использованием общехирургической техникой у получивших гормональную подготовку животных были достоверно лучше. В имплантатах эстрогенизированных животных был лучше представлен и стромальный ($p=0,000001$), и железистый компонент ($p=0,0006$), были зарегистрированы более выраженные воспалительные изменения, такие как отек стромы ($p=0,00006$). Инвазия элементов эндометрия в подлежащие ткани, проявляющаяся уменьшением промежутка между имплантатом и брюшиной, также была более выражена в группе животных после гормональной терапии ($p \ll 10^{-6}$). При внутригрупповом сравнении морфологических характеристик имплантатов, иссеченных на 7 день, и имплантатов, иссеченных на 14 день, было показано, что гормональная терапия в пред- и послеоперационном периодах была связана со стабильностью таких изменений как присутствие в имплантате стромального компонента ($p=0,67$), степень выраженности отека стромы ($p=0,75$) и лейкоцитарной инфильтрации ($p=0,63$). Динамичное наблюдение за состоянием имплантатов эндометрия животных, не получавших гормональной терапии, выявило обратное развитие ряда смоделированных морфологических изменений ткани, таких как присутствие в ткани стромального ($p=0,000007$) и железистого ($p < 10^{-6}$) компонентов, а также усиление лейкоцитарной инфильтрации ($p=0,005$) и фиброза стромы ($p < 10^{-6}$).

В группах животных, подшивание участков ткани эндометрия у которых производилось с использованием микрохирургической техники, морфологические различия между имплантатами эстрогенизированных и неэстрогенизированных животных были выражены менее значительно. Обращает на себя внимание сравнительно низкое содержание железистых структур в имплантатах животных, не получавших гормональной терапии

($p < 10^{-6}$), а также обратное развитие ряда морфологических изменений в имплантатах животных данной группы через 14 дней после моделирования (уменьшение стромального и железистого компонентов ($p = 0,000008$ и $p = 0,58$ соответственно), уменьшение отека ткани ($p = 0,0009$) и лейкоцитарной инфильтрации ($p = 0,03$)).

В группах животных, получавших гормональную терапию, проведен сравнительный анализ эффективности моделирования в зависимости от хирургической техники, используемой во время фиксации имплантатов. Имплантаты, фиксированные с использованием общехирургической техники, на 7 день после моделирования характеризовались более яркой воспалительной реакцией, проявляющейся в виде усиленной гиперемии ($p < 10^{-6}$), массивных кровоизлияний ($p < 10^{-6}$) и значительного спаечного процесса ($p < 10^{-6}$). Морфологическое исследование имплантатов эстрогенизированных животных показало, что используемая хирургическая техника не влияет на эффективность имплантации. Полноценность ткани эндометрия, оцениваемая по представленным в образцах стромальному и железистому компонентам, была сопоставима в группах с использованием общехирургической и микрохирургической техники ($p = 0,045$ и $p = 0,015$ соответственно). При этом изменения, характерные для хронического эндометрита, обнаруживались преимущественно в имплантатах, фиксированных общехирургическими приемами: резко выраженный отек тканей ($p < 10^{-6}$), повсеместные кровоизлияния ($p < 10^{-6}$), лейкоцитарная инфильтрация стромы ($p = 0,000002$).

Процедура моделирования с дополнительным лазерным повреждением имплантатов аутологичного эндометрия, фиксированных на брюшине с использованием микрохирургической техники, не доказала свою эффективность по причине резкого снижения объема стромального и

железистого компонентов после лазерного воздействия ($p=0,000001$ и $p<10^{-6}$ соответственно при сравнении результатов моделирования на 7 и 14 день), а также в связи с наличием признаков отторжения имплантата (достоверное увеличение промежутка между имплантатом и подлежащей брюшиной, $p<10^{-6}$).

Морфологические изменения имплантатов, фиксированных с использованием микрохирургической техники и подвергшихся электрохирургическому воздействию, характеризовались уменьшением объема стромального и железистого компонентов в имплантате ($p=0,000005$ и $p<10^{-6}$ соответственно), а также увеличение промежутка между имплантатом и подлежащей брюшиной ($p<10^{-6}$). Описанные изменения можно интерпретировать как следствие чрезмерной деструкции ткани имплантированного эндометрия, в связи с чем процедура моделирования с использованием электрохирургического повреждения имплантатов эндометрия после их фиксации на брюшине с использованием микрохирургической техники, не может считаться эффективной.

4. Обсуждение результатов

Хронический воспалительный процесс может считаться воспроизведенным, если в ткани эндометрия после всех этапов процедуры моделирования присутствуют следующие морфологические изменения: воспалительно-клеточные инфильтраты, которые состоят из лимфоцитов, а также гистиоцитов и плазматических клеток, отёк эндометриальной стромы, очаговый фиброз стромы, стаз эритроцитов в спиральных артериях и склеротические изменения их стенок [Кузнецова А.В., 2000].

В серии экспериментов на перитонеальных имплантатах аутологичного эндометрия у животных, получавших и не получавших гормональную терапию, показано, что вне зависимости от используемой хирургической техники фиксации имплантатов к брюшине, в отсутствие дополнительной эстрогенизации получить стабильные изменения эндометрия, соответствующие хроническому эндометриту, не удастся. Дополнительная эстрогенизация экспериментальных животных на пред- и послеоперационных этапах позволяет получить более предсказуемые и воспроизводимые изменения в ткани эндометрия и таким образом улучшить результаты моделирования. Последующая экспериментальная работа проводилась на животных, получавших гормональную терапию эстрогенами на этапе, предшествующем процедуре имплантации и в послеоперационном периоде.

Процедура фиксации имплантата эндометрия на париетальную брюшину обеспечивает интраоперационную травму, характеристики которой зависят от используемой хирургической техники, набора инструментов и шовного материала. Имплантаты аутологичного эндометрия приживляется на париетальную брюшину эстрогенизированных животных в независимости от того,

общехирургическая или микрохирургическая техника была использована для их фиксации.

Использование общехирургической техники изолированно обеспечивает характерные для хронического эндометрита морфологические изменения без дополнительного воздействия на ткань имплантатов. Повреждающим действием в данном случае обладает механический фактор, который реализуется посредством используемых хирургических инструментов, шовного материала и технологии его накладывания. Хирургические узлы создают локальное объёмное давление на ткань имплантата, которое и обеспечивает хроническое повреждение ткани. Способность используемого совместно с общехирургическими техниками шовного материала (синтетического нерассасывающегося однониточного шовного материала 4/0) являться причиной локального асептического воспаления объясняет развитие выраженной реакции ткани имплантата в ответ на шовный материал [Семенов Г.М., 2001].

Травматическое воздействие, оказанное на ткань имплантата в ходе его фиксации с использованием микрохирургической техники, является недостаточным для обеспечения адекватной воспалительной реакции в ткани имплантированного эндометрия. Для моделирования морфологических изменений, присущих хроническому эндометриту, ткань имплантатов аутологичного эндометрия была подвержена дополнительной травме в виде однократного лазерного или электрохирургического воздействия.

Применяемые в клинической практике лазерная и электрохирургическая энергии в выбранных режимах (мощность лазерного излучения 2 Вт с длиной волны 980 нм и монополярный режим электрического тока мощностью 10 Вт и частотой 440 кГц) вызывают

чрезмерные и необратимые повреждения ткани имплантатов эндометрия, которые не могут рассматриваться в качестве экспериментальной модели хронического эндометрита.

Таким образом, механическое повреждение ткани аутологичного эндометрия в процессе его фиксации на париетальную брюшину эстрогенизированного животного изолированно вызывает предсказуемую и воспроизводимую воспалительную реакцию ткани эндометрия, которая может рассматриваться в качестве морфологической основы для экспериментальной модели хронического эндометрита. Описанная модель проста в исполнении, так как не требует использования специальных инструментов, особых хирургических навыков или дополнительных повреждающих воздействий. Процедура моделирования подразумевает визуальный контроль за состоянием имплантатов эндометрия, а морфологические методы исследования позволяют дать адекватную оценку результатам моделирования. Данная экспериментальная модель может быть использована для изучения естественного течения воспалительного процесса в ткани эндометрия при различных внешних условиях. Кроме того, возможность осуществления неоднократного доступа к перитонеальным имплантатам с последующим динамическим наблюдением за их состоянием создает удобные условия для изучения механизмов действия и терапевтической эффективности различных лечебных подходов.

5. Выводы

1. Гормональная терапия в пред- и послеоперационном периоде увеличивает жизнеспособность ткани эндометрия после процедуры имплантации, а также позволяет добиться более выраженной и стабильной воспалительной реакции в ткани имплантата в ответ на повреждение.
2. Механическое воздействие на ткань имплантированного эндометрия, реализованное в эксперименте посредством интраоперационного повреждения ткани приемами общехирургической техники, обеспечивает следующие изменения: выраженный отек и усиленную лейкоцитарную инфильтрацию ткани имплантата, умеренный фиброз эндометриальной стромы, а также значительный спаечный процесс брюшной полости в зоне имплантации.
3. Реакция имплантатов аутологичного эндометрия на лазерное воздействие выражается в виде тотальной деструкции ткани. Процедура моделирования с дополнительным лазерным повреждением имплантатов аутологичного эндометрия, фиксированных на брюшине с использованием микрохирургической техники, не доказала свою эффективность.
4. Изменения, происходящие в имплантате аутологичного эндометрия под действием электрохирургической энергии, по своим макроскопическим и морфологическим характеристикам соответствуют преимущественно островоспалительной реакции эндометрия. В связи с нестабильными характеристиками тканевых изменений и их несоответствия морфологическим характеристикам, присущим хроническому эндометриту, процедура моделирования с использованием электрохирургического повреждения имплантатов эндометрия после их

фиксации на брюшине с использованием микрохирургической техники, не может считаться эффективной.

5. Процедура моделирования хронического повреждения эндометрия, которая представляет собой имплантацию участков аутологичного эндометрия с использованием синтетического нерассасывающегося однониточного шовного материала 4/0 и общехирургических техник на париетальную брюшину предварительно эстрогенизированного экспериментального животного обеспечивает морфологические изменения эндометрия, максимально приближенные к характерным для хронического эндометрита.

Литература

1. Айламазян Э.К., Гзгзян А.М., Савинов П.А., Ниаури Д.А., Джемлиханова Л.Х, Усольцева Е.О., Радькова Ю.В., Савельев А.В. Особенности реакции импланта аутологичного эндометрия на механическое воздействие в эксперименте. Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Том LXI. – Вып. 3. - Стр. 22 – 30.
2. Гайдарова А., Кульчицкая Д., Сычева А., Алисултанова Л., Котенко Н., Тарасова Т. Динамика функциональных характеристик микроциркуляторного русла у пациенток позднего репродуктивного возраста с хроническим эндометритом под влиянием контрастного массажа. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2014 4, 33.
3. Гармашева Н.Л. Экспериментальный инфекционный эндометрит. — Л.: Медицина, 1947. — 168 с.
4. Герасимов А.Н. Медицинская статистика (учебное пособие) // Москва, «Медицинское информационное агентство», 2007 г. 475с.
5. Гинекология: национальное руководство / ред. Кулаков В.И., Манухин И.Б., Савельева Г.М. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 1088 с.
6. Гусева Ж., Выжлова О. Клинико-иммунологическое обоснование иммунотерапии больных с острыми воспалительными заболеваниями придатков матки //Российский вестник акушера-гинеколога. – 2006. – С. 5.
7. Кажина М.В. Трансдермальная аутоиммунотерапия при хронических воспалительных заболеваниях органов малого таза. Росс. вестник акуш.-гин. 2004 (3), 51-54.
8. Котиков А.Р., Хоржевский В.А. Хронический эндометрит и нарушения репродукции (обзор литературы). Сибирское медицинское обозрение. 2005. №4.

9. Кроненберг Г.М., Мелмед Ш., Полонски К.С., Ларсен П.Р. Эндокринология по Вильямсу. Репродуктивная эндокринология: пер. с англ.; под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. М.: ООО “Рид Элсивер”, 2011. 410 с. Кулаков В.И., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит // Гинекология. — 2005. — Т. 11, N 5.
10. Кузнецова А.В. Хронический эндометрит / А.В. Кузнецова // Архив патологии. — 2000. — №3. — С.48-52.
11. Маринкин, И.О. Структурная организация лимфоидных органов при остром воспалительном процессе матки и в условиях его коррекции: автореф. ... док. мед. наук / И.О. Маринкин. — Новосибирск, 1996. — 39 с.
12. Мартынов С.А. Возможности электротерапии в подготовке пациенток с хроническим эндометритом к программам ВРТ // Акушерство и гинекология. — 2007. — №. 1. — С. 44-48.
13. Меркулов Г.А. Основы патогистологической техники / М.: Медицина. — 1961 — 187 с.
14. Назаренко Т.А., Дубницкая, Л.В. Возможности энзимотерапии хронических эндометритов у пациенток репродуктивного возраста. Проблемы репродукции. 2007 (6), 25-28.
15. Показатели иммунитета у женщин с нарушением репродуктивной функции / Калинина Н.М. [и др.] // Цитокины и воспаление. — 2002. — Т. 1, N 2. — С. 276-277.
16. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / О.Ю. Реброва. — М.: Медия Сфера, 2006. — 312 с.
17. Рудакова Е.Б., Лобода О.А. Хронический эндометрит в аспекте результативности программ экстракорпорального оплодотворения. Лечащий врач. 2012;11:22-24.
18. Савельева Г.М., Серов В.Н., Сухих Г.Т. Клинические рекомендации // Акушерство и гинекология. — 2009.

19. Савинов П.А., Ниаури Д.А., Ковшова М.В. Разработка экспериментальной модели эндометриоза, адаптированной к современным хирургическим технологиям. Вестник Санкт-Петербургского университета. 2006. 11(3):114-119.
20. Савицкий Г.А. Перитонеальный эндометриоз и бесплодие: (клинико—морфологические исследования) / Г.А. Савицкий, С.М. Горбушин. — СПб.: ЭЛБИ, 2002. — 170 с.
21. Самородинова, Л.А. Использование стероидных гормонов коры надпочечников при воспалительных заболеваниях женских половых органов: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л.А. Самородинова. — Л., 1965. — 21 с.
22. Семенов Г.М. Хирургический шов / Г.М. Семенов, В.Л. Петришин, М.В. Ковшова. — СПб.: Питер, 2001. — 256 с.
23. Серов В.Н., Музыкантова В.С., Жаров Е.В. Современное физиотерапевтическое и бальнеологическое лечение женщин с воспалительными заболеваниями органов малого таза. Журнал РОАГ. 2010 №1: 3-10.
24. Серова О.Ф., Зароченцева Н.В., Капустина М.В. Лечение пациенток с хроническим эндометритом перед проведением экстракорпорального оплодотворения. Российский вестник акушера-гинеколога. 2008. Т. 8. — №. 5. — С. 80-82.
25. Серов В.Н., Коган Е.А., Силантьева Е.С., Шуршалина А.В., Ежова Л.С., Дебольская, А.И. Комплексное лечение хронического эндометрита: клинико-морфологическое обоснование использования физиотерапии. Акушерство и гинекология. 2006 (3), 46-50.
26. Сизякина Л.П., Алубаева Н.Г. Место иммунокорригирующей терапии в лечении хронического рецидивирующего эндометрита. Лечащий врач. 2010. — №11.

27. Способ диагностики хронического эндометрита и характера воспаления: пат. Российская Федерация: (51) 7 G01N33/53 / Е.А. Михнина, В.Н. Эллиниди, Н.М. Калинина, Н.И. Давыдова; заявл. 2003.02.10; опубл. 2004.09.10.
28. Способ моделирования хронических воспалительных заболеваний женских половых органов в эксперименте: пат. RU 2533739 Рос. Федерация: МПК G 09 В 23/28 / Э.К. Айламазян, Д.А. Ниаури, А.М. Гзгзян, Л.Х. Джемлиханова, Ю.А. Радькова, А.В. Савельев, Е.О. Усольцева; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение "Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта" Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук. - № 2012129418/144; заявл. 11.07.2012; опубл. 20.01.2014.
29. Старкова Н.И. Морфогенетическое изменение периферических лимфоидных органов беременных крыс после введения токсина стафилококка // Морфогенез лимфатического и кровеносного русла и их тканей в норме, при патологии и в эксперименте. — Пермь, 1984. — С. 45-47.
30. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит: руководство. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 64 с.
31. Тихоновская О.А. Моделирование острого и хронического воспаления придатков матки // Молодежь и научно—технический прогресс: сборник работ. — Томск, 1986. — С. 76.
32. Трунченко Н.В., Макаров К.Ю., Соколова Т.М. Клинико-морфологические особенности течения хронического эндометрита в стадии ремиссии и возможности коррекции применением пелоидотерапии. Медицина и образование в Сибири. 2014. №2.
33. Фадеева Н.И., Болгова Т.А., Ремнева О.В., С. Д. Яворская С.Д. Фитотерапия в прегравидарной подготовке у пациенток с нарушениями

- репродуктивной функции. Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. 2011. 9(2): 58- 61.
34. Хмельницкий О.К. Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний / О.К. Хмельницкий. — СПб: Сотис., 1994. — С. 136-144.
35. Хронический эндометрит: от совершенствования диагностического подхода к оптимизации лечения / Рудакова Е.Б. [и др.] // Лечащий врач. — 2008. — №10.
36. Чайка В.К., Демина Т.Н., Гошкодеря И.Ю. Реабилитация репродуктивной функции женщин с хроническим эндометритом и рецепторной недостаточностью. Здоровье женщины. 2005. №4(24).
37. Шуршалина А.В., Дубницкая Л.В. Иммуномодулирующая терапия в программе реабилитации пациенток с хроническим эндометритом. Российский вестник акушера-гинеколога. 2006. Т. 1. – С. 36-8.
38. Antonova L.V., Karapetian C.G., Kaukhova N.N., Umakhanova M.M. Characteristics of the clinical course of acute adnexitis in patients using intrauterine contraceptive devices. Akush Ginekol (Mosk). 1990 Oct;(10):41-4.
39. Büchi S., Waelchli R.O., Corboz L., Gyga A.P., Wälti R.J. Postcoital uterine microbe colonization and endometritis in the mare. Tierarztl. Prax. — 1991. — Vol. 19. - N 4. — P. 381-385.
40. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, Indraccolo U, Marrocchella S, Greco P, Resta L. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. Hum Reprod. 2015 Feb;30(2):323-30.
41. Cicinelli E., Matteo M., Tinelli R., Pinto V., Marinaccio M., Indraccolo U., De Ziegler D., Resta L. Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with recurrent miscarriage as confirmed by improved

- pregnancy outcome after antibiotic treatment. *Reprod Sci.* 2014 May;21(5):640-7.
42. Clark I.W. Necrotizing granulomatous inflammation of the uterine body following diathermy ablation of the endometrium. *Pathology.* 1992 Jan;24(1):32-3.
43. Conway D.A., Ketefian A., Shamonki M. Chronic endometritis: A common finding in good prognosis patients with failed implantation following IVF. *Fertil Steril.* 2010 94(4):S175.
44. Crossman S.H. The challenge of pelvic inflammatory disease. *Am Fam Physician.* 2006 Mar 1;73(5):859-64.
45. de Winter P.J., Verdonck M., de Kruif A., Devriese L.A., Haesebrouck F. Influence of the oestrous cycle on experimental intrauterine *E. coli* infection in the sow. *Zentralbl Veterinarmed A.* 1994 Oct;41(8):640-4.
46. Ding L., Li X., Sun H., Su J., Lin N., Péault B., Song T., Yang J., Dai J., Hu Y. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on collagen scaffolds for the functional regeneration of injured rat uterus. *Biomaterials.* 2014 Jun;35(18):4888-900.
47. Ferryman S.R., Stephens M., Gough D. Necrotising granulomatous endometritis following endometrial ablation therapy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992 Nov;99(11):928-30.
48. Gabler C., Fischer C., Drillich M., Einspanier R., Heuwieser W. Time-dependent mRNA expression of selected pro-inflammatory factors in the endometrium of primiparous cows postpartum. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010 Dec 22;8:152.
49. Gurtcheff S.E., Sharp H.T. Complications associated with global endometrial ablation: the utility of the MAUDE database. *Obstet Gynecol.* 2003 Dec;102(6):1278-82.
50. Haggerty C.L., Totten P.A., Tang G., Astete S.G., Ferris M.J., Norori J., Bass D.C., Martin D.H., Taylor B.D., Ness R.B. Identification of novel microbes

- associated with pelvic inflammatory disease and infertility. *Sex Transm Infect.* 2016 Jan 29.
51. Johnston-MacAnanny E.B., Hartnett J., Engmann L.L., Nulsen J.C., Sanders M.M., Benadiva C.A. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2010; 93:437–441.
52. Jones R.L., Critchley H.O. Morphological and functional changes in human endometrium following intrauterine levonorgestrel delivery. *Hum Reprod.* 2000 Aug;15 Suppl 3:162-72.
53. Kaeoket K., Dalin A.M., Magnusson U., Persson E. The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle: studies on the distribution of CD2, CD4, CD8 and MHC class II expressing cells. *Anim Reprod Sci.* 2001 Oct 31;68(1-2):99-109.
54. Kilic S, Yuksel B, Pinarli F, Albayrak A, Boztok B, Delibasi T. Effect of stem cell application on Asherman syndrome, an experimental rat model. *J Assist Reprod Genet.* 2014 Aug;31(8):975-82.
55. Kitaya K, Matsubayashi H, Yamaguchi K, Nishiyama R, Takaya Y, Ishikawa T, Yasuo T, Yamada H. Chronic endometritis: potential cause of infertility and obstetric and neonatal complications. *Am J Reprod Immunol.* 2016 Jan;75(1):13-22.
56. Kitaya K, Yasuo T. Immunohistochemical and clinicopathological characterization of chronic endometritis. *Am J Reprod Immunol.* 2011 Nov;66(5):410-5.
57. Lamonica R., Hartnett J.M., Engmann L., Sanders M.M., Maier D., Benadiva, C. P-389: Immunohistochemistry confirms the presence of chronic endometritis in patients with recurrent implantation failure. *Fertility and Sterility.* 2006 86(3), S280.

58. Møller B.R., Mårdh P.A. Experimental salpingitis in grivet monkeys by chlamydia thrachomatis. *Acta Pathol Microbiol Scand B*. 1980 Apr;88(2):107-14.
59. Porubova Y.P. The state of the endometrial of ifertile women who have IVF program / Y.P. Porubova, T.Y. Pestrikova, S.G. Zrazhevskaya et al. // The 9th Sino-Russia Biomedical Forum. – 2012. - P. 363-364.
60. Rein D.B., Kassler W.J., Irwin K.L., Rabiee L. Direct medical cost of pelvic inflammatory disease and its sequelae: decreasing, but still substantial. *Obstet Gynecol*. 2000 Mar;95(3):397-402.
61. Rivasi F., Curatola C., Garagnani L., Negri G. Detection of Mycobacterium tuberculosis DNA by polymerase chain reaction from paraffin samples of chronic granulomatous endometritis. *Histopathology*. 2007 Oct;51(4):574-8.
62. Rogan D., Fumuso E., Rodríguez E., Wade J., Sánchez Bruni S.F. Use of a mycobacterial cell wall extract (MCWE) in susceptible mares to clear experimentally induced endometritis with streptococcus zooepidemicus. *Bruni. J. Equine Veterinary Science*. — 2007. — Vol. 27. — N 3. — P. 112-117.
63. Ruiz-Alonso M., Blesa D., Díaz-Gimeno P., Gómez E., Fernández-Sánchez M., Carranza F., Carrera J., Vilella F., Pellicer A., Simón C. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril*. 2013 Sep;100(3):818-24.
64. Schenken, R.S., Asch, R.H. Surgical induction of endometriosis in the rabbit: effects on fertility and concentrations of peritoneal fluid prostaglandins. *Fertil Steril*. 1980. 34(6): 581-7.
65. Scrimin F., Limone A., Wiesenfeld U., Guaschino S. Tubercular endometritis visualized as endometrial micropolyps during hysteroscopic procedure. *Arch Gynecol Obstet*. 2010 Jun;281(6):1079-80.

66. Smith M., Hagerty K.A., Skipper B., Bocklage T. Chronic endometritis: a combined histopathologic and clinical review of cases from 2002 to 2007. *Int J Gynecol Pathol.* 2010 Jan;29(1):44-50.
67. Sokkarm S.M., Kubba M.A., Al-Augaidy F. Studies on natural and experimental endometritis in ewes. *Vet Pathol.* 1980 Nov;17(6):693-8.
68. *The Endometrium: Molecular, Cellular and Clinical Perspectives*, Second Edition. Aplin, J.D. [et al.]. Informa Healthcare, 2007: 879 p.
69. Thurman A.R., Livengood C.H., Soper D.E. Chronic endometritis in DMPA users and *Chlamydia trachomatis* endometritis. *Contraception.* 2007 Jul;76(1):49-52.
70. Troshina N.A., Dolgushin I.I., Dolgushina V.F., Bakhareva L.I., Kurnosenko I.V., Nadvikova T.V. effect of longidaze on microbial landscape of cervical canal and uterine cavity during therapy of women with chronic nonspecific endometritis and uterus myoma. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 2015 Jul-Aug;(4):71-4.
71. Vernon M.W. Experimental endometriosis in laboratory animals as a research model. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1990. 323: 9-60.
72. Vilos G.A., Vilos E.C., King J.H. Experience with 800 hysteroscopic endometrial ablations. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 1996 Nov;4(1):33-8.
73. Ward E., Duff P. A comparison of 3 antibiotic regimens for prevention of postcesarean endometritis: an historical cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Feb 18. [Epub ahead of print]. Доступен по: [http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(16\)00337-9/fulltext](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(16)00337-9/fulltext) (дата обращения 18.05.2016).
74. Yorukoglu K., Kuyucoglu F. Chronic nonspecific endometritis / *Gen. Diagn. Pathol.* — 1998. — Vol.143,N 5. — P. 287-290.