

# Динамика морфологических изменений репродуктивного аппарата яичника при экспериментальном аутоиммунном оофорите

*Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Герасимов А.В.,  
Потапов А.В., Варакута Е.Ю., Невоструев С.А.*

## The morphological changes dynamics of ovarian reproductive apparatus in the experimental autoimmune oophoritis

*Dmitriyeva M.L., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Gerasimov A.V.,  
Potapov A.V., Varakuta Ye.Yu., Nevostruyev S.A.*

*Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск*

© Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Невоструев С.А.

На оригинальной экспериментальной модели аутоиммунного оофорита изучены этапы формирования и степень повреждения структурных элементов яичника с использованием гистологических и гистохимических методик, определено содержание антиовариальных антител в сыворотке крови экспериментальных животных методом иммуноферментного анализа. Развитие аутоиммунного оофорита носит стадийный характер с постепенным увеличением выраженности патологического процесса, проявляющегося в нарастании мононуклеарной инфильтрации, перестройке стероидсинтезирующих структур, деструкции овоцитов.

**Ключевые слова:** аутоиммунный оофорит, антиовариальные антитела, морфология.

On the original experimental model of autoimmune oophoritis the stages of formation and extent of destruction to structural elements of the ovary were studied, using histological and histochemical methods, the content antiovarian antibodies in the serum of experimental animals by enzyme immunoassay was determined. Autoimmune oophoritis is the step-wise character, with a gradual increase in the pathological process, which is manifested in the growth of mononuclear infiltration, restructuring steroid-producing structures, destruction of oocytes.

**Key words:** autoimmune oophoritis, antiovarian antibodies, morphology.

УДК 618.11-002-092.4/9:612.621

### Введение

В основе патогенеза таких патологий, как синдромы раннего истощения яичников, резистентных яичников, поликистозных яичников, установлена роль аутоиммунного оофорита (АО) [1, 3, 4, 9], при котором поражаются как структуры, ответственные за стероидогенез, так и репродуктивные элементы. Заслуживает внимания роль аутоиммунных процессов при рецидивирующих кистах [4, 7], хронических воспалительных заболеваниях органов малого таза [1], инвазивных вмешательствах, а именно органосохраняющих операциях на яичниках, и программах вспомогательных репродуктивных технологий [3, 9]. При указанных патологических состояниях обнаруживаются циркулирующие антиовариальные антитела (АОА), а в процессе гистологи-

ческого исследования яичников выявляется характерная лимфоплазмозитарная и эозинофильная инфильтрация вокруг растущих фолликулов [2, 5—7, 9].

Несмотря на большой удельный объем гинекологической патологии с явным или гипотетическим аутоиммунным компонентом, молодой возраст пациенток с нарушением репродуктивной функции, разработку новых перспективных хирургических технологий, до настоящего времени не установлены причина и механизм развития АО [1]. Следовательно, не представляется возможным прогнозировать исход, разрабатывать схемы профилактики и лечения данного заболевания. Гистологическое исследование остается одним из основных способов диагностики аутоиммунного оофорита [1, 9]. Однако не изучена степень и динамика вовлечения в патологический

процесс всех структурных элементов яичника, что могло бы расширить представления о патогенезе АО.

Первоначальным этапом исследования данной патологии с позиции доказательной медицины является создание научно обоснованной модели аутоиммунного оофорита у животных.

Цель работы — изучить этапы формирования и степень повреждения структурных элементов яичника на экспериментальной модели.

## Материал и методы

Эксперимент проведен на беспородных белых половозрелых крысах-самках. На проведение исследования получено разрешение этического комитета Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) № 1231 от 21.12.2009 г. в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755). Основной группе животных ( $n = 30$ ) с целью создания аутоиммунного оофорита проводилась иммунизация в фазах покоя эстрального цикла, подтвержденная кольпоцитологически, дополнительно очищенным трехкратным замораживанием антигеном, представляющим собой экстракт яичников интактных животных, который вводили внутрибрюшинно пятикратно через день (заявка на изобретение, приоритетный № 2010130628 от 21.07.2010 г.). Группа контроля ( $n = 5$ ) — интактные животные.

Животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом в фазу покоя эстрального цикла, которую определяли кольпоцитологически на 5, 10, 15, 30, 60-е сут после последнего введения антигена. Для гистологического исследования яичники фиксировали в 12%-м нейтральном формалине и заливали в парафин. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону, толуидиновым синим, по Браше, с помощью постановки ШИК-реакции. Концентрацию АОА (нг/мл) определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) (ООО «ДиаТомПлюс», г. Томск).

Для оценки морфологических изменений в яичниках проводили морфометрию в соответствии с руководством Г.Г. Автандилова (1990). Подсчет примордиальных и растущих фолликулов, атретических фолликулов и тел, желтых тел проводили на серийных срезах через каждые 150—200 мкм с использованием окулярной измерительной сетки, представляющей

собой большой квадрат, содержащий 25 точек. Удельный объем определяли согласно фундаментальному принципу стереологии Кавальери—Акера—Глаголева.

Статистическую обработку проводили с использованием пакета программы SPSS 17.0 (SPSS Inc.). Анализ полученных данных осуществляли методами описательной статистики с вычислением медианы  $Me$  и интерквартильного размаха ( $Q_1—Q_3$ ). Сравнение средних значений двух выборок выполняли непараметрическим методом ( $U$ -тест Манна—Уитни) при распределении, отличном от нормального. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты

При гистологическом исследовании выявлены характерные для аутоиммунного оофорита изменения — мононуклеарная инфильтрация в окружении фолликулярного аппарата, формирование фолликулярных кист, дисконкомплексация и десквамация фолликулярного эпителия, дистрофия с последующей деструкцией овоцитов, усиление атрезии. Также в инфильтрате при гистохимическом исследовании обнаружены тканевые базофилы и плазмциты. Морфологические изменения нарастали постепенно. Инфильтрация на 5-е сут эксперимента была слабо выражена в основном в области сосудов. Растущие фолликулы сохраняли обычное строение. При этом обнаруживались сформированные фолликулярные кисты, чаще формирующиеся на этапе граафова пузырька. Также выявлялись кисты с лютеинизированной стенкой, в их полости обнаруживались макрофаги, отмечалась полная дегенерация и цитолиз овоцитов. На 10-е и 15-е сут резко увеличивалось количество атретических тел и фолликулов, о чем свидетельствуют данные морфоколичественного анализа. Растущие фолликулы претерпевали изменения в виде дисконкомплексации фолликулярного эпителия. Определялись отек цитоплазмы овоцита и укрупнение ядрышка (рис. 1). В области фолликулов обнаруживалась заметная инфильтрация мононуклеарами. К 30-м сут фолликулы претерпевали выраженные изменения: овоциты практически во всех фолликулах были разрушены, фолликулярный эпителий дисконкомплексован, внутренняя и наружная текальная оболочка инфильтрирована (рис. 2). К 60-м сут первичные и вторичные фолликулы были с деструктивно измененным овоци-

том. В таблице приведены данные морфоколичественного анализа структурных элементов яичников.

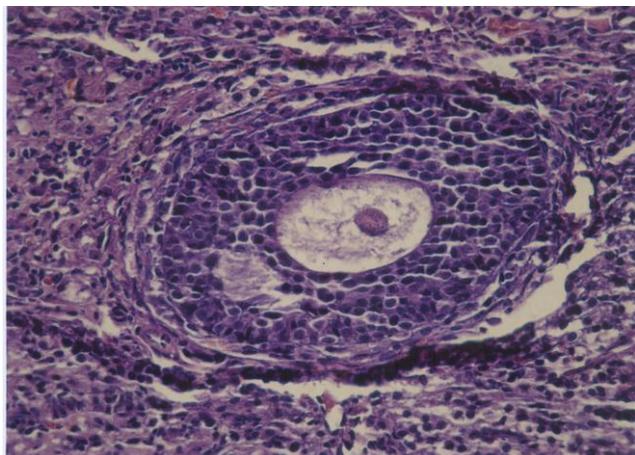


Рис. 1. Вторичный фолликул, дистрофия овоцита. Инфильтрация теки. 10-е сут эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400

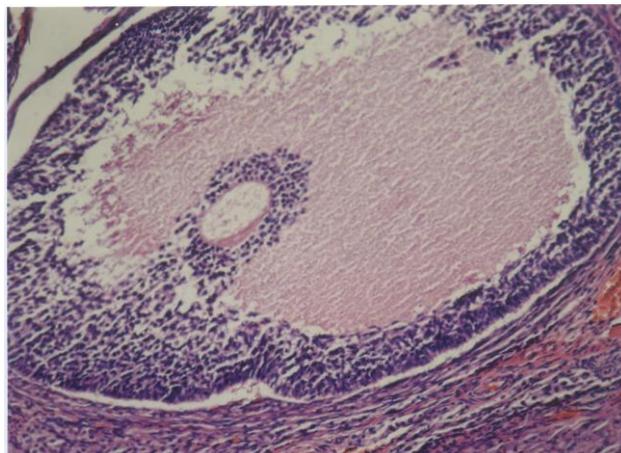


Рис. 2. Третичный фолликул, деструкция овоцита, дисконфлексация и десквамация фолликулярного эпителия. Инфильтрация внутренней и наружной теки. 30-е сут эксперимента. Окраска гематоксилином

и эозином. Ув. 200

Удельный объем структурных элементов яичников, % (Me (Q<sub>1</sub>—Q<sub>3</sub>))

Сутки эксперимента (количество животных)	Растущие фолликулы	Третичные фолликулы	Желтые тела	Атретические фолликулы и тела
5 (5)	2,26* (1,91—5,89)	14,04 (8,22—26,30)	52,29 (32,70—58,50)	2,40* (1,59—3,33)
10 (6)	2,20* (0,40—2,81)	7,08 (1,85—22,02)	46,17 (36,08—53,05)	12,10* (8,70—17,07)
15 (6)	1,14* (0,46—1,92)	11,81 (11,09—15,28)	37,58 (32,95—52,82)	13,91* (6,93—18,60)
30 (7)	2,32* (1,57—4,5)	6,40 (3,15—11,74)	36,00* (29,85—43,59)	5,51* (2,66—7,86)
60 (6)	12,46* (8,57—14,91)	0*	38,68* (30,38—47,47)	3,36* (2,24—7,30)
Контроль (5)	6,93 (4,95—9,61)	9,43 (7,72—11,23)	50,84 (40,65—55,46)	1,37 (0,45—2,16)

\* Критерий достоверности Манна—Уитни  $p < 0,05$  по сравнению с группой контроля.

На 5, 10, 15, 30-е сут эксперимента удельный объем растущих фолликулов был достоверно ниже, чем в контроле, однако удельный объем третичных фолликулов не отличался от такового в контроле. На фоне уменьшенного содержания растущих фолликулов значимо возрастал удельный объем атретических фолликулов и тел по сравнению с таковым в контрольной группе. Морфологическая картина резко изменялась к 60-м сут. Третичные фолликулы отсутствовали. Удельный объем растущих фолликулов был выше в 2 раза, чем в контроле, и в 6 раз превышал данный показатель на 30-е сут эксперимента. Удельный объем желтых тел изменялся лишь к 30-м сут эксперимента и был значимо ниже, чем в контроле. Следует отметить, что среднее количество примордиальных фолликулов в срезе яичника на всех этапах эксперимента не отличалось от такового в контрольной группе — 3,43

(3,00—5,00) на 30-е сут эксперимента, 3,34 (1,50—4,50) в контроле,  $p > 0,05$ .

При исследовании сыворотки крови экспериментальных животных на АОА методом ИФА выявлено, что достоверное повышение концентрации показателя по сравнению с контрольной группой имело место к 30-м сут эксперимента: 10,29 (9,44—11,26) при 1,19 (0,27—2,45) нг/мл в контроле,  $p = 0,007$ . К 60-м сут концентрация АОА достигала своего максимума (14,07 (12,23—22,78) нг/мл,  $p = 0,008$  по сравнению с контролем).

**Обсуждение**

Основываясь на полученных результатах и данных литературы [1—9], механизм формирования морфологических изменений при аутоиммунных процессах в яичнике может заключаться в следующем. При начальном формировании АО происходит поврежде-

ние в первую очередь растущих фолликулов. Третичные фолликулы остаются сохранными [5]. Не отличающийся от контроля удельный объем желтых тел свидетельствует об обычном протекании процессов овуляции. Нарушение овуляции происходит к 30-м сут, когда сокращается удельный объем желтых тел и все так же снижен удельный объем растущих фолликулов. Данный патологический процесс сопровождается увеличением концентрации АОА, что подтверждает сформированный аутоиммунный процесс [3, 9]. Сопоставление морфологической картины и концентрации АОА указывает на то, что ведущую роль в формировании АО играет овариальный антиген, так как при достоверно значимом повышении концентрации АОА определяются выраженные морфологические изменения, характерные для АО. Полная картина аутоиммунного оофорита формируется к 30-м сут эксперимента.

Морфологические изменения яичников при АО свидетельствуют не только о прямом повреждении репродуктивного аппарата иммунокомпетентными клетками, но и о нарушении гормонального статуса. Повреждение клеток теки, как известно, приводит к дефициту эстрогена, так как именно в текальных клетках вырабатывается субстрат синтеза эстрадиола — андростендион. Косвенно о гипоестрогении свидетельствуют данные кольпоцитологического исследования, характеризующие фазу покоя эстрального цикла (диэструс).

Увеличение удельного объема растущих фолликулов к 60-м сут может указывать на адаптационные процессы в яичнике к новым условиям существования для обеспечения репродуктивным материалом. Однако под воздействием иммунокомпетентных клеток и АОА фолликулы несостоятельны по строению, в них отсутствует овоцит, фолликулярный эпителий дисккомплексован, тека инфильтрирована. Поэтому не происходит созревания фолликулов до третичных,

продолжаются атретические процессы и кистообразование.

## Заключение

Созданная экспериментальная модель является адекватным, теоретически обоснованным отражением АО и позволяет изучить этапы его формирования. В механизме формирования АО доминирующую роль играет овариальный антиген. При агрессивном воздействии иммунокомпетентных клеток происходит разрушение растущих фолликулов, приводящее к их атрезии и кистообразованию. В поздние сроки эксперимента в результате гормональных изменений происходит избыточное фолликулообразование с продолжающейся атрезией.

## Литература

1. Царегородцева М.В. Патогенетические аспекты формирования аутоиммунного оофорита при хронических воспалительных заболеваниях органов малого таза и его восстановительная терапия // *Аг-инфо*. 2007. № 2. С. 32—36.
2. Bannatyne P., Russell P., Shearman R.P. Autoimmune oophoritis: a clinical assessment of 12 cases // *Int. J. Gynecol. Pathol.* 1990. V. 9, № 3. P. 191—207.
3. Goswami D., Conway G.S. Premature ovarian failure // *Human Reproduction Update*. 2005. V. 11, № 4. P. 391—410.
4. Hoek A., Schoemaker J., Drexhage H.A. Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity // *edrv.endocjournals.org The endocrine society*. 1997. V. 18, №1. P. 107—134.
5. La Marca A., Brozzetti A., Sighinolfi G. et al. Primary ovarian insufficiency: autoimmune causes // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2010. V. 22, № 4. P. 277—282.
6. Lewis J. Eosinophilic perifolliculitis: a variant of autoimmune oophoritis? // *Int. J. Gynecol. Pathol.* 1993. V. 12, № 4. P. 360—364.
7. Lonsdale R.N., Roberts P.F., Trowell J.E. Autoimmune oophoritis associated with polycystic ovaries // *Hystopathology*. 1991. № 19. P. 77—81.
8. Suh Y.L. Autoimmune oophoritis — a case report // *J. Korean. Med. Sci.* 1992. V. 7, № 3. P. 284—290.
9. Shelling A.N. Premature ovarian failure // *Reproduction*. — 2010. V. 140, № 5. P. 633—641.

Поступила в редакцию 09.09.2011 г.

Утверждена к печати 15.12.2011 г.

## Сведения об авторах

*М.Л. Дмитриева* — аспирант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

*О.А. Тихоновская* — д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии СибГМУ (г. Томск).

*С.В. Логвинов* — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

*А.В. Герасимов* — д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

*А.В. Потапов* — д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

*Е.Ю. Варакута* — д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

*Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Невоструев С.А. Динамика морфологических изменений репродуктивного...*

*С.А. Невоструев* — канд. мед. наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии СибГМУ (г. Томск).

**Для корреспонденции**

*Дмитриева Маргарита Леонидовна*, тел. 8-913-845-0475; e-mail: margarita0708@yandex.ru