

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СИБИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Петров Илья Алексеевич

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ФОРМИРОВАНИЯ ОВАРИАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
ПРИ ОПЕРАЦИЯХ НА МАТКЕ И ЕЁ ПРИДАТКАХ
(клинико-экспериментальное исследование)**

14.01.01 – акушерство и гинекология

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

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

Томск – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 Обзор литературы. Современный взгляд на основы физиологического и раннего старения репродуктивной системы	14
1.1 Естественная фертильность. Возможности диагностики	14
1.2 Старение яичников. Тканевые и молекулярные основы фолликулогенеза	20
1.3 Операции на органах малого таза – факторы снижения репродуктивного здоровья	35
1.4 Андрогены и старение репродуктивной системы. Роль дегидроэписандростерона при «выключении» функции яичников	47
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	56
2.1 Экспериментальная часть	56
2.1.1 Морфологические и ультраструктурные методы	64
2.1.2 Методы гормонального исследования	67
2.1.3 Методы иммуногистохимического исследования	68
2.2 Клиническая часть	71
2.2.1 Критерии включения / исключения, дизайн, методы исследования и лечения (ретроспективное исследование)	71
2.2.2 Критерии включения / исключения, дизайн, методы исследования и лечения (проспективное исследование)	77
2.3 Статистические методы	82
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	89
3.1 Результаты аутопсии	89
3.1.1 Общая характеристика подопытных животных, состояние органов малого таза ложнооперированных крыс	89
3.1.2 Характеристика подопытных животных, состояние органов малого таза, объём яичников, кольпоцитологические изменения	89
3.2 Результаты гормонального исследования	96
3.3 Результаты морфологического исследования	113
3.3.1 Морфофункциональное состояние яичников после электрокоагуляции	113
3.3.2 Морфофункциональное состояние яичников с моделями электрохирургического удаления маточных рогов, яйцеводов, комбинированного объёма операции	124

3.3.3	Морфофункциональное состояние яичников с моделью электрохирургического удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения дегидроэпиандростерона	147
3.3.4	Морфоколичественное исследование яичников с моделями электрохирургического удаления маточных рогов, яйцеводов, их сочетания и после применения дегидроэпиандростерона	166
3.4	Результаты иммуногистохимического исследования	196
ГЛАВА 4 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ, КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ		213
4.1	Результаты ретроспективного исследования пациенток репродуктивного возраста с патологией маточных труб	213
4.1.1	Сравнительная клиничко-anamнестическая характеристика пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия	213
4.1.2	Анализ показателей функционального овариального резерва пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия	222
4.1.3	Анализ показателей индуцированного цикла у пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия	231
4.1.4	Анализ показателей эмбриологического этапа у пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия	235
4.1.5	Оценка эффективности вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия	244
4.2	Результаты проспективного исследования пациенток с радикальными операциями на матке и маточных трубах	258
4.2.1	Исходная клиничко-anamнестическая характеристика пациенток с оперативными вмешательствами	258
4.2.2	Анализ показателей репродуктивного здоровья пациенток до и после радикальных операций на матке и маточных трубах	265
ГЛАВА 5 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ		274
ВЫВОДЫ		361
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ		364
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ		366
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ		367
ПРИЛОЖЕНИЯ		398

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Согласно общепринятой в настоящее время теории женщины рождаются с определенным фолликулярным пулом [215, 335, 490]. К позднему репродуктивному периоду постепенно снижается количество фолликулов и качество овоцитов [413, 423]. Основу репродуктивной функции женщины определяет овариальный резерв (ОР) [2, 15, 205, 456]. Истинный тотальный ОР составляют только не рекрутированные примордиальные фолликулы (ПФ) [209]. Прямые морфологические методы его оценки в клинике ограничены, а доказательные тесты пока не разработаны [349].

Причиной преждевременной овариальной недостаточности (ПОН) в 37% случаев являются ятрогенные факторы [178]. Частота хирургических вмешательств на придатках матки в репродуктивном периоде достигает 26% и постепенно увеличивается [14], но их влияние на формирования ПОН не доказано [60, 147]. Хирургическая агрессия при лечении доброкачественных заболеваний гонад приводит к прямому повреждению фолликулярного аппарата и угнетению функции гонад [417]. Дополнительный вклад вносит электрическая энергия, используемая с целью гемостаза [435].

Гистерэктомия (ГЭ) является наиболее частым хирургическим вмешательством у женщин позднего репродуктивного возраста в большинстве стран мира [78]. В России доля ГЭ в структуре гинекологических операций достигает 40% [10]. К инновационным хирургическим вмешательствам относится оппортунистическое удаление маточных труб с целью снижения риска рака яичников [391], профилактики патологии придатков матки при ГЭ [368], для увеличения эффективности вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

В 2011 г. рабочей группой экспертов пересмотрены стандартизованные критерии старения репродуктивной системы (STRAW+10) [168]. В отношении женщин, перенесших ГЭ, основные критерии не применимы. Стадия репродуктивного старения оценивается только с помощью гормональных и сонографических маркеров функции яичников, необходимы дальнейшие

исследования с изучением характера и продолжительности колебаний предикторов функционального ОР, обусловленных операциями на органах малого таза (ОМТ) [168]

Изменения гомеостаза у женщин после ГЭ определяют необходимость медикаментозной коррекции [10]. В последние годы наряду с проведением традиционной заместительной гормональной терапии (ГТ) появились работы о положительном влиянии дегидроэпиандростерона (ДГЭА) на различные звенья репродуктивной системы [27]. Применение прогормона эффективно при половой дисфункции и климактерическом синдроме [139], улучшает качество жизни и снижает уровень депрессии [39]. Механизмы лечебного действия ДГЭА многообразны и требуют дальнейшего изучения [371].

Таким образом, яичники являются биологическими часами репродуктивной системы. Ведущим прогностическим признаком при её оценке является ОР, зависящий от исходной величины пула ПФ. Операции на ОМТ могут нарушать функцию гонад и приводить к ОН. Вопросы о состоянии яичников после ГЭ и сальпингэктомии (СЭ), влиянии возраста остаются нерешёнными. В условиях отсутствия надёжных маркёров ОР при хирургической менопаузе необходима комплексная оценка функции гонад, изучение молекулярных механизмов фолликулогенеза для поиска новых прогностических критериев и профилактического управления репродуктивным здоровьем во все периоды жизни женщины.

Степень разработанности темы. При операциях, не сопровождающихся непосредственным воздействием на яичники: ГЭ, СЭ, миомэктомии (МЭ), не исключено непреднамеренное расстройство овариального кровоснабжения, а значит и нарушение стероидсинтетической функции гонад. Работы последнего десятилетия демонстрируют отсутствие риска нарушения функции яичников после ГЭ или СЭ [369, 402, 429, 440], либо описывают неблагоприятные эффекты операций [218, 255, 285, 496]. Вероятным механизмом повреждения гонад является острая ишемия и нарушение микроциркуляции [7, 94], однако результаты клинических и экспериментальных исследований свидетельствуют

об отсутствии консенсуса между ГЭ (СЭ) и состоянием репродуктивной системы [60, 167].

В данной работе проведён комплексный анализ морфофункционального состояния гонад при радикальных операциях на матке и маточных трубах, установлены общие закономерности формирования вторичной овариальной недостаточности, обоснована возможность применения дегидроэпиандростерона для её лечения. Результаты исследования являются перспективными в плане формирования клинических протоколов по ведению пациенток с трубным бесплодием, миомой матки в период менопаузального перехода.

Цель исследования – на основании комплексного анализа морфофункционального состояния яичников установить общие закономерности формирования вторичной овариальной недостаточности при радикальных операциях на матке и маточных трубах, экспериментально обосновать возможность использования дегидроэпиандростерона.

Задачи исследования.

1. Провести анализ состояния генеративной, менструальной функций, овариального резерва после радикальных операций на матке и маточных трубах, установить взаимосвязь с возрастом и показанием к операции.
2. Оценить вклад оппортунистической сальпингэктомии в функцию яичников у пациенток с радикальными операциями на матке.
3. Определить роль сальпингэктомии в программах вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с трубным бесплодием в зависимости от возраста.
4. Установить наиболее значимый комплекс предикторов ответа на стимуляцию суперовуляции и его эффективность в программах вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с трубным бесплодием.
5. Выявить общие структурно-функциональные изменения клеточно-тканевых элементов гонад при электрокоагуляции яичников, удалении маточных рогов, яйцеводов и их сочетании в эксперименте.

6. Изучить роль факторов взаимодействия овоцита и соматических клеток окружения (костный морфогенетический белок 15, коннексин 37), пролиферативной активности гранулёзы (антимюллеров гормон) после удаления маточных рогов и яйцеводов в эксперименте.
7. Показать модифицирующее влияние дегидроэпиандростерона на яичники при вторичной овариальной недостаточности после удаления маточных рогов и яйцеводов в эксперименте.

Научная новизна. Впервые и в сравнительном аспекте детально изучено морфофункциональное состояние яичников при радикальных операциях на матке и маточных трубах с применением комплекса гистологических, гистохимических, электронно-микроскопических, клинических методов, иммуноферментного и морфоколичественного анализа.

В эксперименте получены фундаментальные данные о характере и особенностях изменений различных тканевых элементов яичников при их электрокоагуляции, гистерэктомии и сальпингэктомии. Показаны механизмы регуляции фолликулогенеза при удалении маточных рогов и яйцеводов по разным направлениям деятельности овосоматического гистиона (пролиферативная активность гранулёзы, взаимодействие овоцита и соматического микроокружения).

Установлено, что гистерэктомия и сальпингэктомия у крыс изменяют структурно-функциональную организацию гонад. Впервые выявлено, что степень нарушений функции яичников определяется объемом операции, наибольшее повреждение отмечается при сочетанном удалении матки и яйцеводов. Оперативное лечение приводит к инициации фолликулярного роста. В ранние сроки после операций на органах малого таза без прямого повреждения гонад отмечается высокая компетентность фолликуло- и оогенеза. С увеличением сроков опыта вторичная овариальная недостаточность проявляется неполноценностью заключительных этапов фолликулярного развития (преждевременной лютеинизацией и кистозной трансформацией фолликулов, хронической ановуляцией).

Впервые в эксперименте показано модифицирующее влияние дегидроэпиандростерона на яичники при удалении маточных рогов и яйцеводов. Установлено, что прогормон предотвращает значительное снижение овариального резерва после гистерэктомии с маточными трубами. Основным механизмом трансформирующего эффекта на фолликулогенез являются увеличение количества антральных фолликулов и замедления их атрезии.

Клинически установлены особенности генеративной, менструальной, гормональной функций и овариальный резерв после радикальных операций на матке и маточных трубах в различные возрастные периоды женщин. Впервые в сравнительном аспекте установлен вклад гистерэктомии и оппортунистической сальпингэктомии в изменение функции яичников, показана роль удаления маточных труб в реализации программ вспомогательных репродуктивных технологий в зависимости от возраста и времени между операцией и протоколом экстракорпорального оплодотворения. В отношении исходов вспомогательных репродуктивных технологий радикальная операция на маточных трубах более эффективна в позднем репродуктивном возрасте, а также при проведении не позже трёх месяцев перед программой экстракорпорального оплодотворения.

При трубном бесплодии идентифицированы наиболее значимые факторы ответа на стимуляцию суперовуляции, показана их эффективность в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Лучшим комплексом предикторов является сочетание возраста, живорождения в анамнезе, длительности бесплодия, индекса массы тела, ультразвуковые (объём гонад, количество антральных фолликулов) и гормональные (антимюллеров и фолликулостимулирующий гормоны, ингибин В, эстрадиол) маркёры овариального резерва. Разработана прогностическая модель вероятности беременности и живорождения при трубном бесплодии, позволяющая на доклиническом этапе произвести точный расчёт.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные клинико-экспериментальные данные расширяют фундаментальные знания о закономерностях развития, тканевых и клеточных механизмах формирования

вторичной овариальной недостаточности и морфофункциональном состоянии яичников после хирургического лечения гинекологической патологии.

Получено целостное представление о роли ятрогенных причин в формировании недостаточности яичников. Операции на органах малого таза без прямого повреждения гонад (гистерэктомия, сальпингэктомия) сопровождаются неизбежным нарушением фолликуло- и оогенеза вследствие нарушения кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла, угнетением функции яичников. Установленные закономерности могут быть использованы для составления практических рекомендаций, касающихся техники оперативного лечения, применения методов гемостаза, а также оптимизации терапевтического воздействия. Длительно сохраняющиеся гемодинамические нарушения требуют предприятия превентивных мер с ранних сроков после операции. Патогенетически обосновано назначение вазоактивных препаратов, нестероидных противовоспалительных средств и метаболической терапии.

До и после гистерэктомии без придатков исследование репродуктивного здоровья пациенток должно включать оценку гормональных (гонадотропинов, ингибина В) и ультразвуковых (объём яичников, количество антральных фолликулов) маркёров овариального резерва, подсчёт модифицированного менопаузального индекса. Значительное ограничение овариального резерва, увеличение частоты и степени выраженности постгистерэктомического синдрома после операции диктует необходимость направленной медикаментозной коррекции – менопаузальной гормональной терапии вне зависимости от оппортунистической сальпингэктомии.

При трубном бесплодии перед вспомогательными репродуктивными технологиями необходима комплексная оценка репродуктивного здоровья, включающая такие предикторы эффективности как живорождение в анамнезе, длительность бесплодия, индекс массы тела, а также ключевые параметры овариального резерва (возраст, объём яичников, количество антральных фолликулов, антимюллеров и фолликулостимулирующий гормоны, ингибин В, эстрадиол). На основе указанных факторов разработана прогностическая модель

эффективности вспомогательных репродуктивных технологий. Вклад билатеральной сальпингэктомии в прогнозы наступления беременности и живорождения не существенен.

Ограничение овариального резерва после сальпингэктомии в долгосрочной перспективе предопределяет необходимость должного консультирования пациенток с трубным фактором бесплодия. С точки зрения исходов экстракорпорального оплодотворения удаление маточных труб более целесообразно в позднем репродуктивном возрасте, в молодом – при проксимальной трубной окклюзии сальпингэктомия не должна проводиться, при гидросальпинксе реконструктивно-пластические операции (методы функциональной хирургии) являются научно обоснованными. При наличии сальпингэктомии в анамнезе программа вспомогательных репродуктивных технологий наиболее выгодна в ближайшие три месяца после операции. Вне зависимости от сроков планируемого экстракорпорального оплодотворения и возраста пациенток удаление маточных труб требует раннесрочных реабилитационных мероприятий. При отсроченной программе вспомогательных репродуктивных технологий (более 3-х месяцев после сальпингэктомии) в среднесрочной перспективе реабилитация должна включать назначение препаратов, оказывающих тормозящее влияние на функцию яичников.

Методология и методы исследования. Для решения поставленных в рамках представленного исследования задач проведён эксперимент (8 серий опытов на 148 половозрелых крысах-самках) и два блока клинического исследования: ретроспективное контролируемое сравнительное исследование 200 пациенток с различными формами бесплодия и одиночное рандомизированное исследование в параллельных группах 50 женщин с гистерэктомией и оппортунистической сальпингэктомией. Для минимизации систематической ошибки проведена рандомизация пациенток по основным критериям исходя из цели и задач исследования таким образом, чтобы каждый пациент имел равные шансы попасть в ту или иную группу. При проведении анализа применены: стратификация (сравнение влияния изучаемого фактора на

частоту исходов внутри подгрупп, имеющих одинаковый исходный риск) и стандартизация простая (математическая корректировка исходного значения какой-либо одной характеристики таким образом, чтобы уравнивать подгруппу по исходному риску). Для минимизации случайной ошибки использованы адекватные методы биостатистики, контроль качества технических процедур на всех этапах исследования, логический контроль числовых данных.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Операции на органах малого таза без прямого воздействия на гонады сопровождаются повреждением фолликулярного аппарата и формированием вторичной овариальной недостаточности. Гистерэктомия в позднем репродуктивном и перименопаузальном возрасте, сальпингэктомия в репродуктивном возрасте ограничивают функциональный овариальный резерв. При оппортунистическом удалении маточных труб угнетение функции яичников более выражено.
2. Билатеральная сальпингэктомия в репродуктивном возрасте у пациенток с трубным бесплодием значимо не улучшает эффективность вспомогательных репродуктивных технологий, оказывает негативное влияние на функцию яичников в долгосрочной перспективе. Возраст является ведущим фактором ответа на стимуляцию. Более точный прогноз клинической беременности в программах экстракорпорального оплодотворения определяется комплексом показателей репродуктивного здоровья, включая основные предикторы ответа яичников на стимуляцию (возраст и маркёры овариального резерва), живорождение в анамнезе, длительность бесплодия и индекс массы тела.
3. Удаление маточных рогов, яйцеводов, электрокоагуляция яичников в эксперименте изменяют структурно-функциональную организацию гонад. Степень выраженности морфологических изменений определяется объёмом операции и не зависит от выбора метода гемостаза (электрическая или механическая энергия). Наибольшее повреждение яичников отмечается при сочетанном удалении маточных рогов и яйцеводов, наименьшее – при изолированном удалении матки или маточных труб.

4. Гемодинамические изменения в гонадах после радикальных операций на матке и маточных трубах приводят к инициации фолликулярного роста в ранние сроки эксперимента. Повреждение генеративного и эндокринного аппарата гонад в дальнейшем количественно и качественно ограничивают компетентность фолликуло- и оогенеза. Исходом хирургического воздействия и конечным проявлением вторичной овариальной недостаточности являются фиброзная атрофия яичников и уменьшение их объёма в отдаленные сроки.
5. Применение дегидроэпиандростерона после удаления маточных рогов и яйцеводов оказывает модифицирующее влияние на яичники. Прогормон предотвращает значительное снижение овариального резерва после гистерэктомии с маточными трубами. Основными механизмами трансформирующего влияния дегидроэпиандростерона на фолликулогенез являются увеличение количества антральных фолликулов и замедление их атрезии. Благоприятные эффекты прогормона на функцию яичников транзиторные, не могут полностью ликвидировать последствия оперативного лечения.

Внедрение. Результаты работы используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении практических занятий со студентами лечебного и педиатрического факультетов на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии в разделе «Женская половая система», на кафедре акушерства и гинекологии в разделах «Нейроэндокринные синдромы в гинекологии» и «Репродуктология» Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ). Разработанные прогностические модели эффективности вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с трубным бесплодием внедрены в практику отделения репродуктивных технологий СибГМУ.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 25 печатных работ, из них 23 публикации в изданиях, рекомендованных ВАК.

Степень достоверности и апробация результатов. Достаточный объём клинико-экспериментального материала, использование комплексных фундаментальных и современных молекулярно-биологических методов

исследований, адекватных методов статистической обработки свидетельствуют о высокой степени достоверности полученных результатов. Материалы диссертации представлены на X конгрессе молодых учёных и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2009), всероссийской научно-практической конференции «Новые технологии в перинатологии, репродуктивной медицине и педиатрии» (Новосибирск, 2011), 15-й международной научно-практической конференции «Клинические и фундаментальные аспекты репродуктивных проблем и здоровья женщины» (Кемерово, 2011), XVI межрегиональной междисциплинарной научно-практической конференции «Амбулаторно-поликлиническая помощь в акушерстве и гинекологии», посвящённой 125-летию образования лечебного факультета СибГМУ (Томск, 2013), межрегиональной научно-практической конференции «Бесплодный брак, современный взгляд на проблему» (Томск, 2014), II Междисциплинарном форуме с международным участием «Шейка матки и вульвовагинальные болезни» (Москва, 2014), международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины XXI века» (Уфа, 2014), XVIII межрегиональной научно-практической конференции «Амбулаторно-поликлиническая помощь в акушерстве и гинекологии» (Томск, 2015), XIX межрегиональная научно-практической конференции "Амбулаторно-поликлиническая помощь в акушерстве и гинекологии" (Томск, 2016), XIII конгрессе международной ассоциации морфологов (Петрозаводск, 2016).

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 398 страницах компьютерного текста, содержит 4 рисунка, 3 схемы, 19 диаграмм, 36 таблиц, 14 фотографий, 75 микрофотографий и 10 электронограмм. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы результатов исследований, обсуждения, выводов и библиографического списка, включающего 500 литературных источников, из которых 28 на русском и 472 на иностранном языке.

Г Л А В А 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ОСНОВЫ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО И ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

1.1. Естественная фертильность. Возможности диагностики.

Время репродуктивного нездоровья. Эволюционные демографические исследования в области человеческой фертильности представляют чёткую картину двух тенденций XX и XXI веков: женщины желают иметь меньшее количество детей и откладывают рождение ребенка на более старший возраст. Анализ данных более чем 100-летней истории Национального института статистики и экономических исследований Франции показал, что возраст женщины на момент первых родов имеет чёткую тенденцию к увеличению в XXI веке [180]. Тенденция имеет настолько распространённый характер, что демографами предложен специальный термин «отложенный переход» [125]. Рождение детей в более позднем возрасте связано с биологическими (увеличение продолжительности жизни), экономическими (рост безработицы, ухудшение/нестабильность положения), медицинскими (достижения в распространении методов контрацепции, развитие методов вспомогательных репродуктивных технологий – ВРТ), социокультурными (рост занятости и расширение университетского образования, планирование семьи после создания профессиональной карьеры) факторами [489].

С биологической точки зрения, демографический переход привёл к тому, что желание иметь ребёнка появляется в возрасте, когда естественная фертильность снижена, и женщины могут столкнуться с задержкой и/или отсутствием беременности. Первым негативным эффектом отсроченного деторождения является бесплодие. В популяциях с «натуральной фертильностью», в которых рождаемость не контролируется, способность к деторождению уменьшаться с 25 лет, темпы снижения возрастают с 35-летнего возраста [489]. В обзоре Н. Leridon (2008) представлена частота бесплодия,

соответствующая 1% в возрасте 25 лет, 5% – 35 лет, 17% – 40 лет, 55% – 45 лет. Женщины, планирующие беременность в естественных условиях в течение 1 года в возрасте 30 лет, потенциально имеют 75% шанса на успех, в 35 лет – 66%, в 45 лет – до 44%. Истинная частота живорождения значительно ниже по причине невынашивания беременности. В 35 лет доля спонтанных аборт у женщин с бесплодием составляет ~20% [279].

По оценкам M.N. Mascarenhas et al. (2012) в 2010 году 48,5 миллионов женщин во всём мире были бесплодными (12,4% населения). Наиболее высокая частота заболевания отмечена в странах Центральной и Восточной Европы, Центральной Азии – 20,3% населения в возрасте 20-44 лет, наименьшая – в Латинской Америке и странах Карибского бассейна – 9,0% женского населения. Единственный в мире регион, где произошло снижение частоты нарушений репродуктивной функции, это Африка к югу от Сахары (частота бесплодия снизилась от 16,2% до 13,5% женского населения) [312].

Существует предубеждение, что успехи современной медицины, особенно экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), могут полностью компенсировать снижение фертильности с возрастом. Значимость ВРТ часто переоценивается. Эффективность ЭКО у женщин при бесплодии от 2 до 4-х лет не превышает 50% в возрасте от 30 до 35 лет, и составляет менее 30% в возрасте 35-40 лет. ВРТ также малоэффективно в отношении рисков мертворождения и недоношенности. ЭКО не может преодолеть возрастное снижение фертильности [125].

Вторым негативным следствием демографического перехода является резкое снижение рождаемости, обозначаемое в демографической литературе «эффектом темпа» [125, 468]. Согласно данным Организации Объединённых Наций (ООН) около половины (46%) населения мира живёт в странах с низким уровнем рождаемости, где женщины имеют менее 2 детей, а мировая фертильность (2015) составляет 2,5 ребенка на женщину. Наиболее низкий коэффициент рождаемости установлен в Европе (1,6) и Северной Америке (1,9) [492]. Африка по-прежнему остаётся регионом с самой высокой рождаемостью – 4,7 ребенка на женщину. Несмотря на увеличивающуюся численность

населения по прогнозам ООН с 7,3 миллиардов в 2015 году до 9,7 миллиардов к 2050 году [493], а среднее количество детей на одну женщину составит 2,2 [492].

Дефиниции. Исследования последних десятилетий значительно расширили знания о репродуктивной функции женщины и позволили сформировать представления о персональном биологическом возрасте яичников – *ОР* [2, 15, 205, 456]. До сих пор не установлена значимость тех или иных параметров в определении функционального состояния яичников [26]. В клинической практике то, что обычно называют потенциалом яичников, отражает небольшую часть от общего *ОР*, а именно пул «активированных» растущих фолликулов (*РФ*), находящихся на разных стадиях развития (*функциональный ОР*). Для обозначения пула *РФ* были предложены и другие термины: «овуляторный потенциал» [486] и «динамический резерв» [447].

В процессе фолликулогенеза большинство фолликулов находится на пути к дегенерации и апоптозу, и только не рекрутированные не растущие *ПФ* составляют *истинный тотальный ОР* [205], который снижается с возрастом [404]. Однако такое определение репродуктивного потенциала по мнению ряда авторов [2, 15, 26] вряд ли можно считать полноценным, так как неинвазивными методами исследования невозможно оценить число *ПФ* и функциональную полноценность *РФ* [26, 349]. Плотность фолликулов уменьшается с возрастом и коррелирует с объёмом яичников ($V_{я}$) у женщин в возрасте старше 35 лет [187]. Однако, прямой морфологический метод оценки тотального *ОР* не представляет фактического числа овоцитов в гонадах по причине индивидуального диапазона колебаний, а также неравномерного и беспорядочного их расположения [271]. Учитывая также риски, присущие операции, инвазивный метод диагностики в рутинной клинической практике недопустим [400].

Для обеспечения здоровой фертильности состоятельного *ОР* недостаточно. При отсутствии оптимальных условий для имплантации эмбриона весь величайший проект оплодотворения обречён на провал [20]. Максимальная рецептивность эндометрия достигается на 6-8-й дни после овуляции. Однако даже в физиологических условиях почти половина blastocyst, попавших в

полость матки погибает, не находя в ней условий для имплантации [192]. Гарантом реализации репродуктивной функции является состояние гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси. Физиологическая цикличность её работы критически важна не только для сохранения фертильности, но и для способности к вынашиванию и рождению здорового ребёнка.

Таким образом, основу репродуктивного потенциала составляет ОР – запас яичников, определяющий способность формировать здоровый фолликул с полноценным овоцитом, равно как и адекватно отвечать на стимуляцию гормонами [20]. Он определяется совокупным количеством фолликулов, находящихся в яичниках, и напрямую зависит от разнообразных физиологических причин [2]. Ведущими факторами являются пул ПФ в яичниках к моменту окончательного становления менструальной функции, скорость сокращения количества ПФ в яичнике, качество овоцитов.

Диагностика репродуктивного потенциала. Общей целью тестирования ОР является оценка качества и количества оставшихся яйцеклеток в попытке предсказать репродуктивный потенциал [426]. В последние годы предложено большое количество маркёров оценки ОР на предмет их способности предугадать исход ЭКО. В настоящее время существующие оценочные тесты можно разделить на 5 групп: биологические (возраст), биохимические статические (базальные концентрации фолликулостимулирующего гормона – ФСГ, ингибина В и эстрадиола – E_2 , антимюллерова гормона – АМГ, соотношение ФСГ/лютеинизирующему гормону – ЛГ) и динамические (СССТ – тест с кломифен цитратом, GAST – агонистом ГнРГ, EFORT – экзогенным ФСГ), биофизические (ультразвуковые: количество антральных фолликулов – КАФ, $V_{я}$, доплерометрия яичникового кровотока), гистологические (биопсия яичников), генетические (длина CGG-повторов в гене X-хромосомы FMR1). Некоторые методы стали рутинной диагностической процедурой у больных бесплодием. Однако, истинное значение тестов для лечения пациентов с точки зрения доказательной медицины подлежит дискуссии [40].

Необходимость оценки ОР в плановом порядке определяется рядом факторов. Во-первых, тестирование позволяет персонализировать подход к методам ВРТ и распределить пациенток на подгруппы. Индивидуальный подбор дозы гонадотропинов может обеспечить более высокие показатели частоты наступления беременности [36]. Во-вторых, оценка ОР является основным методом консультирования и управления ожиданиями, особенно у женщин в возрасте старше 40 лет или при неожиданных ответах в предшествующих циклах стимуляции [383]. Тестирование позволяет выявить популяцию женщин с ранним старением яичников и своевременно назначить необходимую терапию. Тем не менее обязательное применение тестов для всех пациенток может быть и нецелесообразным, так как предсказание «бедного» ответа яичников не влияет однозначно на проводимое лечение [170], а точность прогноза ненаступления беременности на практике вряд ли повлечёт за собой отказ от ЭКО. Кроме того, понятие «качество овоцитов» и «количество овоцитов» не идентичны, а большинство тестов демонстрируют только число определённых популяций РФ. По мнению А. Maheshwari, Р. Fowler, S. Bhattacharya (2006) в клинике результаты исследования ОР менее информативны, чем первый цикл ЭКО [288]. В настоящее время лучшими скрининговыми маркерами ОР считаются повозрастные значения АМГ и КАФ [59, 428, 451, 466].

Стадии старения репродуктивной системы. Фертильность представляет собой сложное физиологически и поведенчески детерминированное явление. Естественная способность к зачатию и вынашиванию обусловлена возрастом. Процесс угасания функции репродуктивной системы постоянный, темпы снижения фертильности увеличиваются в середине третьего десятилетия, достигают максимального значения (полная потеря способности к зачатию) в возрасте 50 лет. Менопауза является универсальной и естественной частью процесса старения [61]. Физиологическое угасание функции яичников имеет индивидуальные различия, поэтому хронологический и биологический возраст могут не совпадать. Возраст наступления менопаузы имеет широкий диапазон (40-60 лет), у большинства женщин приходится на 51 год [222]. Ранней

менопаузой считается состояние, сопровождающееся исключением функции яичников в 40-45 лет. ПОН устанавливается при прекращении менструаций в возрасте моложе 40 лет. Первичная или вторичная ОН ставят под угрозу не только способность к зачатию, но и приводит к существенным рискам здоровья в целом. Даже физиологическая гипоэстрогения более чем у половины женщин вызывает различные соматические, нейровегетативные, обменно-эндокринные и психоэмоциональные симптомы, ухудшающие качество жизни [222].

Точная оценка диапазона изменений функционирования репродуктивной системы является необходимой составляющей для профилактического управления репродуктивным здоровьем во все периоды жизни женщины. В 2001 году (США) рабочей группой экспертов по изучению этапов старения репродуктивной системы женщин (Stages of Reproductive Aging Workshop – STRAW), была предложена система критериев различных этапов функционирования репродуктивной системы от менархе до постменопаузы [169]. В течение 10-и последующих лет установлена их ценность для клинической практики и научных исследований. Недостатком предложенных методов оценки являлась возможность их применения только у здоровых женщин. Организованная номенклатура включала три долгосрочных периода жизни женщины: репродуктивную стадию, переходный период и постменопаузу. Все стадии, в целом, подразделялись на 7 этапов, а нулевой точкой отсчёта являлась последняя менструация (0 стадия) [169]. С учётом передовых знаний о критических изменениях в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системе в 2011 году (США) критерии STRAW были пересмотрены группой научных сообществ. STRAW +10 (2011) учитывают современные маркёры начала позднего репродуктивного периода и раннего менопаузального перехода (АМГ и ингибин В), однако ограничено применимы для таких состояний как ПОН, ГЭ и абляция эндометрия, синдром поликистозных яичников (СПКЯ), перенесённая химиотерапия. Указанные научные направления должны стать перспективой последующих исследований [168].

1.2. Старение яичников. Тканевые и молекулярные основы фолликулогенеза.

Овариальная редукция. Репродуктивная система женщины функционирует в строгом соответствии с принципом сокращения [20]. Работами E. Block (1952, 1953), T.G. Baker (1963) более полувека назад показано, что на 4-м месяце внутриутробного развития в яичниках плода содержится около 6-7 млн незрелых половых клеток (оогониев), окружённых слоем уплощённых гранулёзных клеток, образующих пул ПФ [88, 180]. В любом хронологическом возрасте подавляющее большинство (> 99%) овоцитов в яичниках присутствует в виде покоящихся ПФ. Наибольшая потеря ПФ путём апоптоза происходит во второй половине жизни плода. К моменту рождения количество оогониев редуцируется почти в 4 раза – до 1-2 миллионов [420]. После рождения скорость потери фолликулов несколько замедляется. В возрасте менархе количество женских половых клеток не превышает 300-400 тысяч [423]. В течение репродуктивного периода процесс редукции не только продолжается, но и постепенно ускоряется. В возрасте 30 лет количество ПФ составляет только 12% (10-100 тысяч), в 40 лет – 3% (1-10 тысяч) от их значений к моменту рождения. В менопаузальный период количество фолликулов снижается до менее чем 1000 [475]. На протяжении фертильного периода овулирует всего порядка 400 овоцитов [43].

20 лет назад впервые M.J. Faddy и R.G. Gosden (1995) на математической модели фолликулярной динамики показано, что скорость исчезновения фолликулов удваивается, когда пул ПФ сокращается до 25 тысяч [174]. Модель предполагает, что женщины имеют двухфазное экспоненциальное снижение числа ПФ с переломной точкой в 38 лет. Возраст определён как критический, после которого ОР резко снижается [261]. Некоторые авторы оспорили это мнение в связи новыми данными в репродуктивной биологии о возможности нео-оогенеза [198, 365]. K.R. Hansen et al. (2008) показана связь овариального старения с постепенной атрезией в течение всего репродуктивного периода [34], что подчёркивает возможную разницу (до 100 раз) в размере пула ПФ даже у пациенток с нормальным ОР.

В настоящее время наиболее надёжным примером старения яичников признана математическая модель W.H. Wallace и T.W. Kelsey (2010) [480]. Авторами включены гистологические данные о количестве ПФ, демонстрирующих скорость рекрутирования, дальнейшего развития или апоптоза в яичниках женщин от зачатия до менопаузы (рис. 1.1.1).

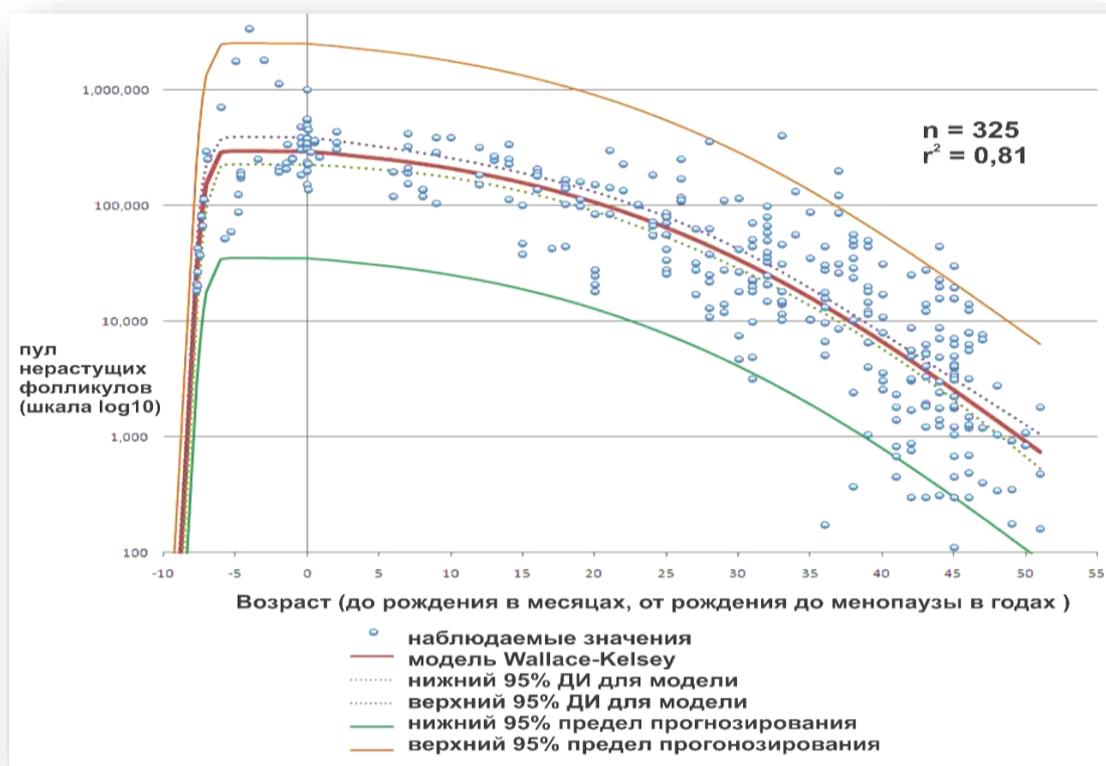


Рис. 1.1.1. Модель яичникового старения W.H. Wallace и T.W. Kelsey (2010) [480].

Помимо редукции значительной части фолликулов, в течение жизни снижается качество овоцитов, достигая значимого значения для реализации репродуктивной функции в возрасте 30 лет [88] (рис. 1.1.2). Потеря качества овоцитов обусловлена неспособностью гомологичных хромосом правильно разделиться во время мейоза, что обуславливает анеуплоидию у женщин старших возрастных групп [469]. Риск трисомии по 21 хромосоме в возрасте 25 лет составляет 1/1500, в возрасте 40 лет – 1/16 [315]. В физиологических условиях около 20% (диапазон колебаний 10-60%) всех овоцитов формируют анеуплоидные эмбрионы. Механизмы могут также включать повреждение

герминогенных клеток при их формировании во время внутриутробной жизни, накопленные в течение жизни повреждения овоцитов, или возрастные изменения качества соматических клеток окружения [262].

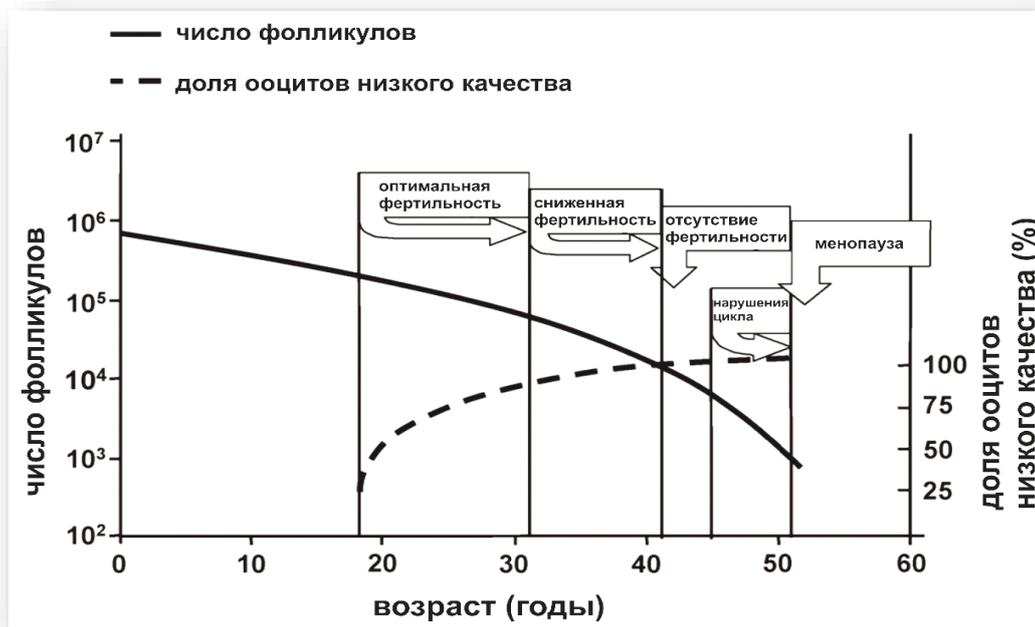


Рис. 1.1.2. Схематическое представление зависимости числа ПФ и компетентности овоцитов от возраста по F.J Broekmans, M.R. Soules, B.C. Fauser (2009) [88].

На молекулярном уровне снижение качества овоцитов может быть связано с изменением биохимических процессов в митохондриях. Все митохондрии оогоний по своему происхождению материнские [315], поэтому высказано предположение, что наследование дисфункциональных старых материнских митохондрий может увеличить риск хромосомных аномалий [432]. Старение связано с увеличением митохондриальной агрегации в овоцитах и снижением концентрации церамидов [268], цитоплазматического аденозинтрифосфата в метафазе II [422].

«Микро-экзогенным» фактором качества овоцитов является активность теломеразы. Впервые в 1971 году отечественным учёным А.М. Оловниковым для объяснения экспериментальных данных Л. Хейфлика выдвинута теория маргинотомии – отсчёта клеточных делений и старения вследствие

недорепликации последовательностей ДНК на концах хромосом (теломерных участков). Теория предполагала, что «не старение» обусловлено теломеразой – особым ферментом, препятствующим укорочению теломерных участков при каждой репликации хромосом. В 1985 году К. Грейдер и Э. Блэкберн выявили в клетках теломеразу, а в 1998 году при помощи фермента исследователям удалось «омолодить» культуру клеток, за что в 2009 году ученые были удостоены нобелевской премии. Так как с возрастом активность теломеразы снижается в клетках яичников человека, несмотря на отсутствие корреляции между тандем-ДНК-полимеразой и уровнем ФСГ, активность фермента является хорошим индикатором возраста яичника [413].

Фолликулогенез у млекопитающих. Фолликулогенез рассматривается как процесс достижения последовательно более высоких уровней организации с помощью пролиферации и дифференцировки клеток. После выхода из покоящегося состояния фолликулы доходят до овуляции, либо подвергаются атрезии [367]. Развитие фолликулов включает в себя четыре основных этапа: 1) инициацию ПФ; 2) ранний фолликулярный рост, (развитие преантральных фолликулов); 3) отбор и рост антральных фолликулов (≥ 2 мм); 4) созревание преовуляторного фолликула [214]. Механизмы выхода ПФ из состояния покоя окончательно не установлены [266]. Преантральная стадия роста автономная (гормон-независимая), длится наиболее долго: от инициации ПФ до стадии ВРФ проходит в среднем 290 дней (~ 10 регулярных менструальных циклов). Антральный рост возможен только в присутствии гонадотропных гормонов, прежде всего ФСГ. После образования полости в фолликуле скорость его роста возрастает. Интервал времени между начальными этапами образования фолликулярной полости (фолликулы диаметром 0,4 мм) и развитием преовуляторного фолликула (диаметром 20 мм) составляет около 60 дней (~ 2 менструальных цикла). Для достижения доминантным фолликулом преовуляторной стадии требуется 20 дней. В процессе развития большинство фолликулов находится на пути к дегенерации и апоптозу [215, 335, 490].

Физиологические функции фолликулогенеза известны, однако механизмы, контролирующие этот процесс, окончательно не установлены [185]. Большинство молекулярно-генетических исследований в области репродуктивной биологии основано на изучении гомологичных генов у низших организмов и на моделях с целенаправленными нарушениями аллелей (генетически модифицированные мыши) [196]. Наиболее полная база данных генов, участвующих в «физиологическом» фолликулогенезе и при отдельных вариантах патологии гонад, представлена J. Hua et al. (2015) [185]. Интегрированная система «фолликул online» основана на более чем 43 тысячах публикаций, описывает 580 генов / белков на 23 моделях организмов, включая человека. Длительное время основной поиск в области биологии репродукции человека был сосредоточен на последних двух неделях созревания фолликулов. Вместе с тем, критически важным является понимание механизмов активации и начального фолликулярного роста, когда количество и качество овоцитов ещё не определено окончательно [232]. На основании данных литературы и собственных результатов исследований представлены основные и потенциальные факторы и сигнальные пути, вовлечённые в процесс раннего фолликулярного развития (рис. 1.1.3).

Инициация фолликулярного роста. ПФ являются фундаментальными репродуктивными единицами. Переход от состояния покоя до стадии роста называется рекрутированием или активацией. Гистологически ПФ содержит небольшой первичный овоцит (~ 25 мкм в диаметре), находящийся на стадии профазы I мейоза, окружённый одним слоем уплощённых клеток. ПФ находятся в микросреде, исключаяющей контакт с большинством других клеток и кровеносными сосудами, имеют ограниченный доступ к эндокринной системе. Гистологическими признаками активации ПФ служат приобретение митотического потенциала клетками гранулёзы (изменение формы на кубическую) и рост овоцита [490].

Рекрутирование покоящихся фолликулов в основном контролируется паракринной взаимосвязью между овоцитом, фолликулярным эпителием,

соседними текальными клетками. Пул ПФ находится под строгим контролем ингибирующих влияний. Последовательность действий опосредована секретлируемыми ростовыми факторами [266, 335]. Экспериментальные данные предполагают, что сами овоциты в значительной степени управляют передачей сигналов, регулирующих набор и скорость роста фолликулов. Интраовоцитарная сигнализация, поддерживающая «покой» ПФ, обеспечивается тремя ключевыми факторами: PTEN, FOXO3 и TSC. Основные сигнальные пути проходят через PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназу) [490].

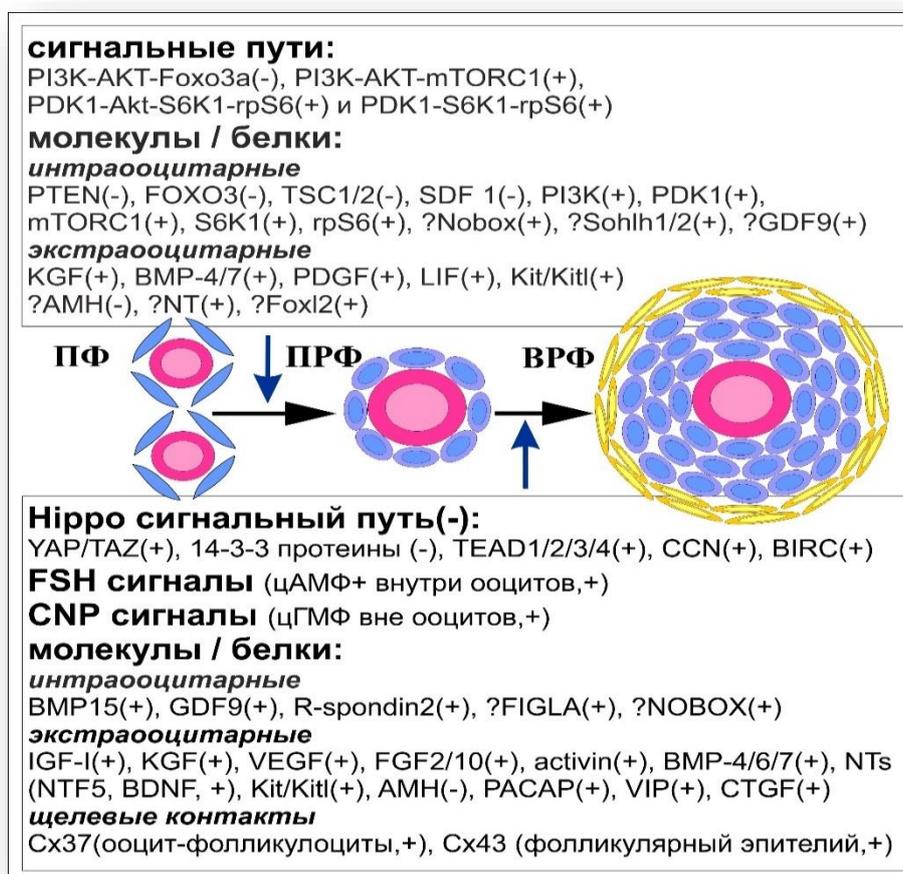


Рис. 1.1.3. Схема основных факторов и сигнальных путей, вовлечённых в процесс раннего фолликулогенеза (объяснение в тексте). «-» – поддержание «покоя» ПФ / ограничение развития ПРФ и ВРФ, «+» – активация ПФ / стимуляция роста ПРФ и ВРФ, «?» – потенциальное участие.

Для сдерживания активации фолликулов требуется сигнализация PI3K-AKT-Foxo3a [266, 490]. Данный сигнальный путь опосредуется PTEN

(фосфотензин). Отсутствие PTEN активирует PI3K с образованием фосфолипида фосфатидилинозитол-3, -4, -5-трифосфата (PIP3) и Akt (протеинкиназа B) сигнализацию. На PTEN-дефицитных мышцах (OoPten -/-) показана сверхактивация ПФ (рост достигает стадии первичных и вторичных) и раннее истощение яичников [328]. Белок Foxo3a (forkhead box O3A), принадлежащий к forkhead семейству транскрипционных факторов, также сдерживает рекрутирование. Foxo3a обнаруживается в ядрах овоцитов и фолликулярных эпителиоцитов ПФ. В РФ экспрессия фактора снижается. Foxo3a-нокаутированные мыши (Foxo3a -/-) демонстрируют схожий с OoPten -/- фенотип, сопровождающийся ростом овоцитов и активацией фолликулов [415]. Истощение пула ПФ у Foxo3a -/- приводит к бесплодию.

Вторым сигнальным путём является PI3K-AKT-mTORC1 (протеинкиназа серин-треониновой специфичности). Мультимолекулярный комплекс TORC1 (мишень рапамицина млекопитающих) контролируется гетеродимерными белками: TSC1 (гамартин) и TSC2 (туберин) [266, 490]. У TSC1- и TSC2-дефицитных мышечей (OoTsc1 -/-, OoTsc2 -/-) отмечается преждевременная активация ПФ за счёт увеличения сигнализации S6K1-ppS6 (S6 киназа 1 и рибосомальный протеин S6). Фенотип также аналогичен OoPten -/- [462]. Оба белка (TSC и PTEN) регулируют рекрутирование фолликулов по пути S6K1-ppS6. TSC ингибирует фосфорилирование S6K1 до треонина 389, PTEN – до треонина 229.

Активация PI3K также обусловлена внеклеточными сигналами. Паракринная сигнализация между овоцитом и соматическими клетками окружения обеспечивается основным лиганд-рецептором – RPTK (рецептор тирозинкиназы). В постнатальных яичниках Kit (стволовой клеточный фактор) экспрессируется на поверхности овоцитов, а kitl (лиганд) обнаруживается в прегранулёзных клетках и фолликулярных эпителиоцитах всех типов РФ [138].

На ранних стадиях развития фолликулов, в которых FSH-рецепторы отсутствуют, передача сигналов PI3K контролируется сигнализацией kit / kitl. В первичных овоцитах kitl приводит к фосфорилированию Akt и Foxo3a. У

млекопитающих Akt инактивирует Foxo3a с участием факторов роста и инсулина. Эффект последнего для активации ПФ заключается в ингибировании FOXO3. В сигнальном пути PI3K PIP2 (фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат) фосфорилируется до PIP3. Фактор является вторичным мессенджером для PDK1 (3-фосфоинозитид зависимой киназы-1) и Akt. Akt способствует жизнеобеспечению клеток, вызывает рост и активацию овоцитов. У мышей с овоцит-специфическим исключением гена, кодирующего PDK1 (OoPDK1 -/-), подавление сигналов PDK1-Akt-S6K1-rpS6 приводит к истощению пула ПФ [348]. В противоположность этому, PTEN ингибирует PI3K путем превращения PIP3 в PIP2. Главной мишенью Akt является семейство FOXO, подавляющее активацию ПФ и поддерживающее фолликулы в состоянии покоя, стимулирующее проапоптотические гены [348]. В дополнение к двум сигнальным путям ауто-, паракринным действием, ингибирующим активацию фолликулов, обладает хемокин подсемейства CXС, вероятно, выделяемый овоцитами – SDF 1 (стромальный клеточный фактор 1). CXCL12 и его рецептор – CXCR4, участвуют в различных физиологических процессах, в том числе и миграции герминогенных клеток гонад. Экспрессия SDF 1 α увеличивается при росте фолликулов, а культивация неонатальных яичников *in vitro* с ингибитором фактора (AMD3100) сохраняет фолликулы в неактивном состоянии [115].

В рекрутировании ПФ также участвуют факторы, находящиеся вне непосредственного взаимодействия комплекса овоцит-эпителиоциты гранулёзы. Стромальные клетки, окружающие ПФ, секретируют KGF (фактор роста кератиноцитов), BMP-4 и BMP-7 (костные морфогенетические белки 4 и 7), PDGF (тромбоцитарный фактор роста), LIF (ингибирующий лейкоз фактор). Факторы способствуют переходу ПФ в растущий пул [138, 490]. BMP-4 и BMP-7 являются членами суперсемейства TGF β , связываются с двумя типами рецепторов серин-треонин киназы (BMPRII/AcTRIIA и ALK3/ALK6). Сигнальная трансдукция проходит через SMAD 1/5/8 путь. Белки активно экспрессируются в клетках теки антральных фолликулов, в то время как рецепторы обнаруживаются в фолликулярном эпителии и овоцитах [316].

KGF, PDGF и LIF повышают регуляцию *Kitl* в клетках гранулы. В ПФ FGF7 и PDGF экспрессируются в овоцитах и стромальных клетках окружения (паттерны экспрессии у человека и грызунов отличаются [264]), а LIF – в прегрануле и соматических клетках [138]. У KGF-дефицитных мышей (FGF7 -/-) дефекты рождаемости не выявлены. Нокаут LIF (LIF -/-) вызывает нарушение имплантации, но в целом отмечается нормальный фолликулогенез и овуляция [138]. Способность многих молекул влиять на *Kitl* экспрессию является следствием эволюционно сложившихся «избыточных» путей передачи сигнала.

Факторами транскрипции множественных сигнальных путей, регулирующими первый шаг фолликулогенеза являются также *Foxl2*, *GDF9*, *NOBOX*, *SOHLH1*, AMГ и нейротрофины. Помимо *FOXO3* другим фактором *forkhead* семейства, играющим ключевую роль в переходе ПФ в растущий пул, является *Foxl2* (*Forkhead boxL2*). У мышей белок экспрессируется в прегранулёзных клетках, выражение *Foxl2* снижается в преантральных фолликулах. У *Foxl2*-дефицитных животных (*Foxl2* -/-) ПФ образуются, однако не развиваются до вторичных в результате дефекта дифференцировки клеток гранулы. Большая часть овоцитов активируются преждевременно, о чём свидетельствует экспрессия *GDF9* (фактор роста/дифференцировки 9). Блок пролиферации замедляет рост овоцитов и приводит к атрезии фолликулов [189].

GDF9 является ведущим фактором роста овоцитарного происхождения, обеспечивающим функции соматических клеток окружения. Белок регулируется *Novox* и экспрессируется в овоцитах ПФ. Лечение крыс с рекомбинантным *GDF9* приводит к увеличению скорости фолликулярной активации и роста фолликулов. Нокаут фактора у мышей (*GDF9* -/-) вызывает рост овоцитов, обусловленный повышенной регуляцией *Kitl*. Возрастающий уровень ингибина α приводит к снижению пролиферации клеток гранулы, отсутствию условий для образования теки. В результате *GDF9* -/- фолликулы далее первичной стадии не формируются. *GDF9* играет роль в наборе клеток гранулы, в то же время ограничивает роста овоцитов [138]. Паттерны экспрессии демонстрируют большую роль фактора в процессах дальнейшего роста фолликулов.

Nobox (новорожденный овоцитспецифический гомеобоксный протеин), Sohlh1 и Sohlh2 (сперматогенез- и оогенез-специфические белки 1 и 2, построенные по принципу «спираль-петля-спираль») являются критическими факторами транскрипции перехода фолликулов из примордиального в растущий пул. Все три белка обнаруживаются в кластерах герминогенных клеток, ПФ и ПРФ. Sohlh1 и Sohlh2 исчезают когда овоциты достигают антральной стадии, NOBOX определяется во всех стадиях фолликулогенеза. Мыши с недостатком указанных факторов транскрипции стерильны. Несмотря на то, что яичники от новорожденных нокаут-особей Nobox $-/-$ или Sohlh1 $-/-$ содержат сходное с контролем количество клеточных кластеров герминогенных клеток и ПФ, рост фолликулов далее примордиальной стадии нарушается. Sohlh2-дефицитные животные (Sohlh2 $-/-$) имеют похожий Nobox $-/-$ или Sohlh1 $-/-$ фенотип, но иногда формируют фолликулы с несколькими слоями гранулёзы [138, 266].

Роль АМГ и его рецептора исследована в Amh $-/-$. Самки мышей, лишённые АМГ, плодородны, однако отмечается преждевременное истощение ПФ (АМГ ингибирует их рост). При культивировании неонатальных яичников мыши (равно как и ткани яичников человека) в присутствии рекомбинантного АМГ количество ПФ снижается в среднем в два раза. В настоящее время АМГ является единственным экзогенным негативным регуляторным фактором фолликулярной активации [405]. У человека установить прямую связь между концентрацией АМГ и пулом ПФ трудно (у мышей существует сильная корреляция между указанными параметрами). Тем не менее у женщин АМГ положительно коррелирует с КАФ [138, 266].

Базальный фолликулярный рост (рост фолликулов от инициации до стадии малых антральных – 2 мм в диаметре). На ранних этапах развития первичный фолликул представлен кубическими эпителиоцитами гранулёзы, формирующими один слой вокруг овоцита (диаметр которого ~ 25 мкм). На протяжении преантрального фолликулогенеза его структура изменяется за счёт пролиферации клеток гранулёзы и приобретения теки. Основные события, происходящие в ПРФ, включают экспрессию рецептора ФСГ, рост и

дифференцировку овоцитов. Рецепторы ФСГ в фолликулярном эпителии ПРФ обнаруживаются вскоре после инициации фолликулярного роста. Ключевыми стимуляторами экспрессии рецептора ФСГ являются собственно гонадотропин, активин, цАМФ и TGF. Несмотря на то, что рекрутирование и начальные стадии роста фолликулов не зависят от гонадотропинов, ФСГ необходим для развития первичного фолликула до преантральной стадии. A.J. Hsueh et al. (2015) предлагают использовать два термина в обозначении преантральной и антральной стадий роста фолликулов – «ФСГ-чувствительный» и «ФСГ-зависимый» периоды [253]. В результате реактивации генома овоцита в период от примордиальной до преантральной стадии, размер половой клетки увеличивается в 5 раз, окружающий внеклеточный матрикс образует прозрачную оболочку (zona pellucida) [490].

Центральными регуляторами белков zona pellucida (zp1, zp2, zp3) являются транскрипционные молекулы FIGLA (фактор герминогенной линии α), NOBOX и факторы роста GDF9, BMP15 [490]. Zp-дефицитные мыши являются бесплодными или субфертильными, так как отсутствует рост и дальнейшее развитие фолликулов. FIGLA же необходим для формирования ПФ пренатально. При удалении *Figla* (*Figla* $-/-$) количество кластеров герминогенных клеток аналогично контролю, однако в постнатальном периоде ПФ отсутствуют. *Figla* $-/-$ яичники демонстрируют снижение активности 165 и увеличение 38 генов, большая часть которых кодирует факторы обязательных функций нуклеиновых кислот [138].

Ключевая роль в регуляции преантрального фолликулогенеза отводится овоцит-секретируемым факторам, в первую очередь GDF9 и BMP15. Оба фактора вырабатываются овоцитами, стимулируют пролиферацию клеток гранулёзы и развитие теки [138, 201]. Нарушение регуляции GDF9 отмечено при СПКЯ, мутация BMP-15 сопряжена с ПОН [490]. Третьим овоцитарным маркером пролиферации фолликулярного эпителия является R-spondin2. Белок является фактором роста стволовых клеток, действует через Wnt сигнальный путь. Участие R-spondin2 в преантральном фолликулогенезе впервые

продемонстрировано Y. Cheng et al. (2013) [326]. В естественных условиях введения агониста R-spondin стимулирует развитие фолликулов до преантральной стадии как у неполовозрелых мышей, так и у десенситизированных введением антагониста ГнРГ взрослых особей.

В дополнение к овоцитарным факторам, большая группа белковых лигандов, секретируемых клетками гранулёзы и действующих через РТК (рецепторные тирозинкиназы) модулирует рост фолликулов: ИФР-I, KGF, VEGF, FGF2, FGF10, активины, BMP-6, AMГ, RASAP, VIP, CNP, CTGF. Овариальная роль РТК-опосредованной сигнализации некоторых лигандов представлена выше, однако физиологическое значение указанных факторов в преантральном фолликулогенезе менее очевидно [253].

Важным событием в развитии первичного фолликула является образование межклеточных связей между овоцитами и клетками гранулёзы. Оба типа клеток формируют многочисленные цитоплазматические выступы и микроворсинки, для увеличения площади соприкосновения. Многочисленные щелевые контакты (межклеточные каналы) представлены белками – коннексинами (Cx), обеспечивают диффузию ионов, метаболитов и сигнальных молекул. В яичниках млекопитающих экспрессируются несколько Cx, по крайней мере два (Cx37 и Cx43) имеют существенные роли в процессе фолликулогенеза [490].

После приобретения фолликулом двух слоёв гранулёзы развивается морфологически различимый слой соматических клеток. Мезенхимальные клетки, обнаруживающиеся вокруг базальной мембраны, вырабатывают BMP-4. Экспрессия фактора в стромальных клетках, вероятно, необходима не только для активации ПФ, функциональный маркер является условием дифференцировки текальных эндокриноцитов. Формирование внутреннего слоя теки во время преантрального фолликулогенеза является гонадотропин-независимым, так как клетки-предшественники лишены рецепторов ЛГ, а слой образуется в яичниках ФСГ-дефицитных мышей. Развитие текальных оболочек сопровождается новообразованием мелких кровеносных сосудов, обеспечивающих циркуляцию питательных веществ и гонадотропинов вокруг РФ. До антральной стадии

гистион содержит пять гистологически различных, но взаимодействующих структурных единиц: зрелый овоцит, окружённый zona pellucida, около 9 слоёв фолликулярных эпителиоцитов и 2 слоя теки с капиллярной сетью снаружи от базальной мембраны [138, 490].

Факторы, регулирующие текальную дифференцировку окончательно не установлены, предполагается, что это небольшие молекулы 20-25-кДа секретируемые РФ. Потенциально способствующие дифференцировки тека-клеток маркёры включают ИФР (инсулиноподобные факторы роста), kitl и GDF9. Так как E_2 имеет существенное значения для более поздних стадий фолликулогенеза и овуляции, а текальные эндокриноциты экспрессируют рецептор ЛГ задолго до кавитации, необходимо подавление избыточного биосинтеза Тес в преантральных и малых антральных фолликулах. Клетки гранулёзы секретирует активины, модулирующие эффекты ЛГ на эндокриноциты теки. Kitl фолликулярных эпителиоцитов также регулирует факторы теки, обладающие аутокринным тормозящим действием на производство андростендиона: $TGF\beta$, $TGF\alpha$, FGF7, и HGF (фактор роста гепатоцитов) [138, 490].

Окончание преантрального фолликулогенеза сопровождается изменениями овоцитов, при которых возможно самопроизвольное возобновление мейоза при его удалении из фолликулярной среды. Решающую роль в регулировании (подавлении) мейотической компетенции овоцитов играет цАМФ (циклический аденозинмонофосфат) [490]. Действия ФСГ опосредуется преимущественно сигнализацией цАМФ внутри самого овоцита. Помимо ФСГ, CNP (натрийуретический пептид С-типа) является паракринным фолликул-стимулирующим фактором в том числе на преантральной стадии. CNP активирует NPR2 (рецептор, гуанилатциклаза В), обеспечивающий сигнализацию вторичного мессенджера – цГМФ (циклический гуанозинмонофосфат). Существует доказательство того, что именно цГМФ (а не цАМФ) переходит через щелевые контакты из клеток гранулёзы в овоцит, где

ингибирует функцию PDE3A (фосфодиэстеразы 3A), предотвращая PDE3A опосредованное расщепление цАМФ и сдерживая, таким образом, мейоз [253].

Постнатальный оогенез. Спор о наличии или отсутствии в постнатальном яичнике герминогенных клеток возник чуть менее 100 лет назад. К середине XX века после публикации S. Zuckerman (1951), показавшего, что в течение жизни млекопитающих овоциты не образуются, общепризнанной считалась теория конечного количества фолликулов, которое формируется в течение эмбрионального периода жизни [424]. В историческом контексте публикация J. Johnson et al. (2004) «Герминогенные стволовые клетки и фолликулярное обновление в постнатальном яичнике млекопитающих» в журнале «Nature» подняла дискуссию на новый уровень [198]. Авторами показано, что популяция герминогенных стволовых клеток присутствует в яичнике взрослой мыши, а число овоцитов регулируются балансом активации и гибели этих клеток.

Исследования с использованием маркировки ядер тритием тимидина показали, что овоциты постнатальных яичников являются прямыми потомками эмбриональных герминогенных клеток [424]. Незрелые половые клетки фетальных яичников млекопитающих и грызунов экспрессируют несколько факторов, характерных для плюрипотентных стволовых клеток, таких как октамер-связывающий фактор транскрипции 4, специфический эмбриональный антиген 4, гомеобокс-фактор транскрипции генов, рецептор тирозинкиназы для фактора стволовых клеток и другие [475]. Однако не все оогонии демонстрируют аналогичную экспрессию в постнатальном периоде. Более того, после родов только у некоторых видов млекопитающих (наиболее примитивные приматы) незрелые половые клетки выявляются в гонадах. У человека почти все оогонии вступают в мейоз на 9-22 неделе внутриутробного развития или останавливаются на стадии митоза и элиминируются из фетальных яичников, и не обнаруживаются в постнатальном периоде [446]. В целом, данные свидетельствуют о примитивности неонатальных гонад мокроносых приматов по сравнению с человеческими, одновременно подтверждая факт персистенции оогониев во взрослых гонадах, учитывая эволюционное развитие приматов.

Несмотря на отсутствие прямых доказательств сохранения оогониев в яичниках взрослой женщины идея о герминогенных стволовых клетках получила развитие [200, 319, 477]. K. Zou et al. (2009) успешно проведены эксперименты с герминогенными стволовыми клетками. Клетки, полученные от неонатальных мышей, трансплантировали в яичник бесплодных особей, в дальнейшем подвергались оогенезу, демонстрировали нормальный кариотип, высокую активность теломеразы и формировали потомство [365].

Находки в моделях на грызунах сопровождались аналогичными открытиями в организме человека. Y.A. White et al. (2012) выделили митотически активные герминогенные стволовые клетки из коры яичников женщин репродуктивного возраста. Профиль экспрессии генов в них был сопоставим с примитивными половыми клетками. Авторы обнаружили, что герминогенные стволовые клетки способны сохраняться *in vitro* в течение нескольких месяцев и спонтанно развиваться в овоцит-подобные структуры диаметром 35-50 мкм. После маркировки зеленым флуоресцентным белком и ксенотрансплантации в биоптаты коркового вещества яичников человека или иммунодефицитных мышей наблюдалось образование «овоцитов», экспрессирующих данный белок [323]. Следует всё же отметить, что данная работа критикуется некоторыми учёными, учитывая потенциальные риски контаминации используемого материала незрелыми овоцитами [475].

Экспериментальные данные показали, что клетками-предшественниками овоцитов в постнатальных яичниках могут быть и другие популяции стволовых клеток. Работа A. Vukovsky et al (2005) впервые демонстрирует в качестве источника стволовых клеток поверхностный эпителий [90], что находит своё подтверждение в других исследованиях [127, 475]. Овоцит-подобные клетки могут также развиваться из стволовых клеток амниотической жидкости человека, эмбриональных клеток дермы и даже панкреатических стволовых клеток в моделях на животных. Таким образом, разнообразные стволовые клетки, проявляющие плюрипотентность, могут являться предшественниками

овоцит-подобных клеток, экспрессирующих зародышевые маркеры. Однако, они все далеки от реальных и компетентных овоцитов.

Несмотря на ограниченные результаты исследований и большую долю скептицизма в отношении нео-оогенеза, направление считается весьма перспективным для репродуктивной медицины. Трансплантация аутологичных стволовых клеток и / или оогенез *in vitro*, вероятно, не восстановят естественную фертильность в ближайшее время, но могут стать ведущим методами лечения у большого числа пациенток с бесплодием, причиной которого являются нефункционирующие яичники. Для онкофертильности такой подход являлся бы даже более безопасным, чем криоконсервация и аутотрансплантации размороженной ткани яичников у больных раком, сопряжённых с риском реимплантации злокачественных клеток в организм.

1.3. Операции на органах малого таза – факторы снижения репродуктивного здоровья

Преждевременная овариальная недостаточность представляет собой состояние, характеризующееся отсутствием нормальной функции яичников у молодых женщин вследствие начинающегося старения гонад, и приводящее к более ранней менопаузе [178]. Заболевание характеризуется прекращением менструаций в течение по крайней мере 4-х месяцев и ассоциировано с повышением ФСГ [361]. Гипергонадотропный гипогонадизм встречается с частотой 1/100 в возрасте до 40 лет, 1/1000 – до 30 лет и 1/10000 – до 20 лет [113, 413]. Патогенез заболевания установлен, включает конгенитальную редукцию ПФ, недостаточное их рекрутирование и / или ускоренную атрезию фолликулов. В то время как этиология ПОН часто неизвестна [407]. К установленным причинам заболевания относятся: хромосомные аномалии или мутации генов (связанные в основном с X-хромосомой, например FMR1 премутация), метаболические расстройства (например, галактоземия и дефицит 17-ОН), аутоиммунное повреждение яичников, вирусные инфекции (например ВИЧ и эпидемический паротит), воздействие токсинов и других факторов окружающей

среды / образа жизни (например бисфенол А, курение), и, наконец, ятрогенные факторы (химио-, лучевая терапия, а также хирургия ОМТ с потенциальной угрозой кровоснабжению яичников) [259]. Подавляющее число женщин с ПОН не имеют симптомов, предшествующих прекращению менструации: нормальную историю менархе, регулярные менструальные циклы и физиологическую фертильность [360]. Для постановки диагноза заболевания помимо симптомов менопаузы в возрасте до 40 лет требуется установление повышенной концентрации ФСГ > 30 МЕ/л в двух последовательных пробах, выполненных с интервалом 4-6 недель. Другие общепотребительные тесты оценки ОР (АМГ, ингибин В, E_2 , $V_{я}$) изолированно или в комбинации сопряжены с высокой вероятностью ложноположительных и ложноотрицательных результатов, не должны использоваться [426].

Краткосрочные эффекты ПОН в основном являются результатом стремительного дефицита плеiotропных функций эстрогенов, подобны спонтанной менопаузе и относятся к климактерическому синдрому. Долгосрочные последствия включают бесплодие, половую дисфункцию, остеопороз, сердечно-сосудистые и неврологические заболевания, а также риск преждевременной смерти [361]. Дефицит половых стероидов после хирургического вмешательства является более серьезным и длительным по сравнению с естественной менопаузой в виду резкого выключения функции яичников [178]. Поэтому заместительная ГТ для улучшения качества жизни должна быть начата «как можно скорее» [360]. Согласно данным испанского консенсуса относительно ПОН, ГТ должна продолжаться, по крайней мере, до среднего возраста естественной менопаузы [407].

Операции на органах малого таза. Согласно обзору литературы А.Ж. Fenton (2015) частота ятрогенных причин ПОН достигает 37% [178]. Помимо лучевой и химиотерапии, имеющих гонадотоксичное влияние, к резкому дефициту эстрогенов приводит овариотомия (в том числе унилатеральная) [159]. Несмотря на доброкачественный характер заболеваний, являющихся показанием для оперативного лечения с удалением матки, значительная доля женщин по-

прежнему подвергается дополнительной билатеральной сальпингоовариэктомии: 23% в возрасте 40-44 лет и 45% – в 45-49 лет) [284]. Рутинное удаление придатков матки обусловлено эффективным снижением риска злокачественного поражения яичников [389] и доступностью заместительной терапии эстрогенного дефицита [414]. Данные последнего систематического обзора E.C. Evans et al., опубликованного в сентябре 2016 года, свидетельствуют о том, что удаление придатков матки во время ГЭ эффективно снижает риск рака яичников (0,02-0,04% vs 0,14-0,7% при изолированной ГЭ и одинаковой летальности от злокачественного поражения гонад) и повторной операции, однако крайне неблагоприятно сказывается на других аспектах женского здоровья, особенно если выполняется в репродуктивном периоде. В возрасте до 45 лет дополнительная сальпингоовариэктомия без последующей менопаузальной ГТ увеличивает смертность от всех причин (HR 1,41; 95% CI 1,04-1,92), в том числе от сердечно-сосудистых заболеваний (HR 1,84; 95% CI 1,27-2,68), частоту деменции и болезни Паркинсона [389].

Если вклад синдрома постовариэктомии в репродуктивное здоровье женщин очевиден, то в отношении большинства других гинекологических операций доказательств формирования ПОН не достаточно. Хирургическая агрессия (цист- и цистомэктомия, дреллинг, диатермокоагуляция) при лечении доброкачественных заболеваний ОМТ приводит к прямому повреждению фолликулярного аппарата, и без того подвергающегося возрастной редукции. Дополнительный вклад также может вносить электрическая энергии, наиболее часто используемая с гемостатической целью [435]. Поэтому развитие вторичной ОН закономерно [417]. Большой интерес вызывают последствия операций, не сопровождающихся непосредственным воздействием на гонады: ГЭ, СЭ, миомэктомия (МЭ), эмболизация маточных артерий и др. Методы хирургического лечения могут непреднамеренно нарушать овариальное кровоснабжения, а значит и стероидсинтетическую функцию гонад. Основное заболевание также может влиять на ОР, поэтому изолированный вклад хирургического фактора требует тщательного анализа.

Наиболее полные аналитические обзоры в отношении различных операций на ОМТ опубликованы в течение последних двух лет [60, 147]. А. Iwase et al. (2014) на основании 40 реферируемых статей показали, что цистэктомия значительно снижает концентрацию АМГ. В отношении потенциальных повреждающих факторов – ГЭ, СЭ и эмболизации маточных артерий достаточных доказательств формирования вторичной недостаточности яичников не получено [60]. Все выводы авторов базируются только на одном маркёре – концентрации АМГ.

О. Rustamov et al. (2016) представили результаты многофакторного регрессионного анализа [147]. Унилатеральная оофорэктомия значительно снижает только АМГ (-54%, $p=0,001$), ФСГ (+14%, $p=0,06$) и КАФ (-28%, $p=0,34$) не изменяются. Исследователи утверждают, что при СЭ маточные и яичниковые ветви маточных артерий часто удаляются вместе с мезосальпинксом, однако СЭ не влияет на ОР, так как изменения основных маркёров незначимы (АМГ +9%, $p=0,33$; КАФ -2%, $p=0,59$; ФСГ -14%, $p=0,21$). Обсуждая ряд аналогичных исследований, авторы советуют выполнять СЭ как безопасную процедуру. Однако при тщательном анализе работы О. Rustamov et al. (2016) тенденции колебаний гормонов (повышение АМГ, снижение ФСГ) могут являться следствием кратковременного стимулирующего эффекта операции на овариальную функцию, а долгосрочные последствия не известны.

Гистерэктомия. Несмотря на незначительную тенденцию снижения органосохраняющих операций в гинекологических стационарах, по истечению более чем полутора веков ГЭ является самым частым хирургическим вмешательством у женщин позднего репродуктивного возраста в большинстве стран мира [78]. Количество произведенных операций на 100 тыс. населения в Германии составляет 236, Великобритании – 42, Дании – 180, Швеции – 210, Австралии – 165, США – 143, Канаде – 108, [85, 308]. По данным Национального центра статистики здравоохранения США каждая четвертая женщина репродуктивного возраста не имеет матки [297], а 3/4 всех ГЭ дополняются сальпингоовариоэктомией [402]. В России доля ГЭ в структуре гинекологических операций достигает 40% [10].

В результате преодоления высоких рисков смертности после ГЭ философию прошлого века в отношении операции наиболее полно характеризовало высказывание R.C. Wright (1969): «Матка имеет только одну функцию: репродукция. После последней планируемой беременности орган становится бесполезным, вследствие кровотечений, возникающих симптомов, потенциального рака, должен быть удалён» [399]. В настоящее время представленное ошибочное убеждение полностью отменено. ГЭ с овариэктомией приводит к развитию специфического эстроген-дефицитного состояния, проявляющегося серьёзными и продолжительными симптомами со стороны психоэмоциональной сферы, сексуальной дисфункцией, метаболическими, сердечно-сосудистыми и другими нарушениями, оказывающими негативное влияние на здоровье в целом [385]. Операция с сохранением одного / обоих яичников, или их части после резекции сопровождается проявлениями хирургической менопаузы у 60-85% женщин [9], у небольшой части женщин интактные гонады функционируют до возраста естественной менопаузы. Одни исследования демонстрируют отсутствие риска нарушения функции яичников после ГЭ [233, 429, 440], другие описывают неблагоприятные эффекты операции [285]. Антагонистические результаты клинических и экспериментальных исследований привели к отсутствию консенсуса между ГЭ и состоянием репродуктивной системы [60, 167].

Функция яичников после удаления матки. Большинство авторов свидетельствуют о формировании ПОН после ГЭ в ближайшее после операции время или, по крайней мере, наступление менопаузы на несколько лет раньше физиологического возраста [10, 13, 145, 150, 430]. Операция ускоряет процесс инволюции яичников, может приводить к острым приходящим эффектам [478] или тяжелым необратимым последствиям [248].

Существует три основные гипотезы формирования ПОН после ГЭ [257]: исходная предрасположенность к ранней менопаузе [145], утрата эндо-, паракринного органа [399, 436] и ишемическое повреждение [7, 30, 94, 177].

Предшествующее состояние гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы сопряжено с повышенным риском угасания функции яичников [145]. Данных о влиянии на гонады таких состояний и заболеваний, как аномальные маточные кровотечения (АМК), миома матки и эндометриоз крайне мало. Менометроррагия в пременопаузе самостоятельно может являться проявлением нарушенной функции яичников [145]. Эндометриоз, являясь дисгормональным иммунозависимым и генетически детерминированным заболеванием, неизбежно нарушает овариальный гомеостаз [158]. Другим наиболее частым показанием к ГЭ является миома матки. С одной стороны, при заболевании могут быть выявлены косвенные доказательства дефицита эстрогенов (например, снижение минеральной плотности костной ткани) [190]. С другой – миоматозные клетки, наоборот, проявляют способность самостоятельно синтезировать эстрогены за счет высокого содержания в них ароматазы [22]. Локальная гиперпродукция половых стероидов подтверждена работами A.Z. Souza et al. (1986) [337] и E.A. Nahás et al. (2005) [150]. В яичниковых артериолах концентрация эстрогенов выше таковой в локтевой вене в 2-8 раз. По мере роста миоматозной матки увеличивается диаметр приносящих маточных и особенно яичниковых сосудов, а одномоментное удаление депо эстрогенов резко меняет гормональный баланс, вызывая срыв адаптационно-приспособительных механизмов.

Матка как орган-мишень закономерно влияет на нейроэндокринную регуляцию функции яичников через центральный механизм (афферентная импульсация в центральную нервную систему), или локальную регуляцию (собственная диффузная нейро-эндокринная система эндометрия) [23], оказывает ингибирующее действие на функцию гипофиза [94]. Скорость фолликулярной атрезии коррелирует с наступлением менопаузы после ГЭ. Хирургическое лечение в репродуктивном возрасте даже без удаления придатков оказывает повреждающее действие на гипоталамо-гипофизарную систему, приводя к снижению уровня компенсаторных процессов в организме женщины (вызывает стресс), ускоряет потерю фолликулов и предполагает паракринный эффект матки и эндометрия [436].

Наиболее вероятным механизмом повреждения гонад является острая ишемия и нарушение микроциркуляции в результате исключения из кровоснабжения яичников маточных артерий [7, 94]. Дополнительный вклад может вносить перерастяжение и тромбоз яичниковых сосудов воронкотазовой связки [30]. P.O. Janson & I. Jansson (1977) с использованием радиоизотопа ^{133}Xe для измерения овариального кровоснабжения одними их первых показали, что ГЭ снижает перфузию яичников на 50-90% [258]. Изменения возникают в результате пересечения собственной связки яичника и лигирования яичниковой ветви маточной артерии в процессе оперативного вмешательства. Нарушение микроциркуляции является следствием повышенного внутрияичникового давления.

За последние два десятилетия доплерография стала признанным методом исследования гемодинамики яичников [150]. Скорость кровотока в овариальных артериях чрезвычайно мала, сопротивление сосудов изменяется в зависимости от фазы менструального цикла [82], половые стероиды его уменьшают и способствуют притоку крови к гонадам [457]. После менопаузы эстрогенный дефицит постепенно снижает доплеровские сигналы диастолического артериального кровотока яичников вплоть до полного отсутствия через 5 лет [270]. E.A. Nahás et al. (2005) показали снижение ИП и указали даже на возможность увеличения яичникового кровоснабжения после операции, не найдя рационального объяснения [150]. C.C. Chan, E.H. Ng & P.C. Ho (2005) установили, что несмотря на отсутствие изменения V_d , основные показатели стромального кровотока в гонадах после ГЭ снижены [95]. H. Xiangying, H. Lili & S. Yifu (2006) исследовали не только основные доплерографические характеристики яичникового кровотока, но и их взаимосвязь с гормональными маркерами ОР. Авторы пришли к выводу, что на 5-е сутки после ГЭ пиковая систолическая скорость кровотока, ФСГ и ЛГ значительно выше, а E_2 и прогестерон – ниже таковых до операции и в контроле. Допплерографические параметры коррелируют с ФСГ и E_2 . Через 1 и 3 месяца, наоборот, пиковая систолическая скорость кровотока снижается, а индекс пульсации повышается,

но корреляция с эндокринными факторами отсутствует [494]. Соответственно, острая ишемия вследствие операционной травмы, отёка тканей может носить лишь транзиторный характер.

Противоположные эффекты ГЭ на функцию яичников могут быть объяснены исходно разным типом кровоснабжения яичников. С.К. Володиным (1997) методами интраоперационных ангиотензометрии и трансиллюминации установлено 3 типа кровоснабжения яичников и 5 анатомических вариантов экстраорганный сосудистой сети придатков матки [7]. Гонады могут кровоснабжаться: а) равномерно маточной и яичниковой артериями, образуя две (33%) или три (41%) дуги анастомозов; б) преимущественно маточной артерией, изолированно (4%), либо имеющей несравненно больший диаметр (16%); в) преимущественно яичниковой артерией (6%). Показано, что удаление матки без придатков при исходном кровоснабжении маточной артерией приводит к падению артериального давления в экстраорганных сосудах сохраняемых яичников до нулевых цифр. В то же время ГЭ с односторонней овариоэктомией при исходном кровоснабжении яичниковой и маточной артериями в равной мере или преимущественно яичниковой артерией не приводит к выраженным нарушениям гемодинамики в сосудах сохраняемых яичников [7].

Гистерэктомия и овариальный резерв. Автором проведён поиск и анализ литературы, направленный на изучение состояния ОР при удалении матки, в течение последних десяти лет по ключевым наукометрическим ресурсам: PubMed Medline, Cochrane Library. Критерии отбора информации: 1) исследования и обзоры, опубликованные 01.2007-12.2016, 2) ГЭ с сохранением по крайней мере одного яичника по поводу доброкачественных заболеваний, 3) поисковые запросы: # «hysterectomy» and «ovarian reserve» (or «AMH», or «FSH», or «inhibin B», or «AFC»). По результатам поиска всего найдено 22 работы: 2 обзора (один систематический) [60, 257], 7 рандомизированных клинических исследований (РКИ) – уровень доказательности IIa только в двух [111, 145] и IIb в остальных [144, 239, 285, 402, 461]), 10 не РКИ [68, 69, 97, 106, 109, 166, 336, 434, 438, 439], и 3 экспериментальных исследования [105, 130, 167].

Анализ литературы показал, что только в 2-х исследованиях изменений функции яичников не установлено [336, 461]. Все остальные исследования так или иначе демонстрируют ограничение ОР от преходящего до стойкого.

В целом работы: а) построены на ограниченной выборке, не превышающей 35 (4 РКИ [111, 239, 402, 461]) – 90 (2 РКИ [144, 285]) человек на группу и имеют малую мощность; б) ретроспективный дизайн (2 исследования [166, 434]), характеризуются отсутствием контрольной группы (9 из 11 не РКИ) и, вследствие этого, низкий уровень доказательности; в) часто преследуют иные цели (удаление матки сочетается с различными методами удаления маточных труб [461]) или ГЭ выступает в качестве группы сравнения для МЭ [111], эмболизации маточных артерий [285], СЭ [239, 402], трахелэктомии [434], консервативных методов лечения доброкачественных заболеваний [144]; г) непоследовательны в выводах (результаты сравнения обобщены) [147], сравниваемые группы демонстрируют неоднородность (для исходной характеристики большинства РКИ проводится оценка только одного параметра) или неучтёнными остаются ключевые [145]); д) крупные многоцентровые РКИ и обзоры, как правило, включают также пациенток с историей оперативного вмешательства на яичниках [147] или их одностороннего удаления [389] (объёмы операции доказано более критичные для функции яичников); е) только единичные исследования предоставляют конечные оценочные точки, такие как возраст менопаузы, частота и степень выраженности дефицита эстрогенов, качество жизни [145]. Дополнительно оценка функции гонад осложняется отсутствием надёжных маркёров естественной и хирургической менопаузы, сопряжена с проблемой классификации [145, 307].

Сальпингэктомия. Пионером хирургии ОМТ по праву можно считать R.L. Tait [211]. Шотландский гинеколог известен разработкой нового метода оперативного лечения внематочной беременности (СЭ) в 1883 году. В настоящее время к инновационным хирургическим вмешательствам относится оппортунистическое удаление маточных труб. Существует три основные стратегии СЭ с профилактической целью. Операция проводится для снижения

риска серозного рака яичников у носительниц мутации BRCA [391] и профилактики патологии придатков матки в дальнейшем [368] (симультанные вмешательства для ГЭ), а также при приобретенной патологии маточных труб для увеличения эффективности ВРТ [291].

Сальпингэктомия и рак яичников. В 2001 году канадскими [320] и голландскими [137] патологами в области гинекологической онкологии впервые показаны «диспластические» изменения эпителия дистальных отделов маточных труб у женщин-носительниц BRCA 1/2. С 2007 года наряду с гипотезой потери контроля опухолевого супрессора в развития рака яичников равноправной теорией является доказательство происхождения рака из дистального отдела маточных труб с наибольшим потенциалом злокачественной трансформации фимбриальных отделов [280]. S. Salvador et al. впервые в 2009 году предложено выполнение профилактической СЭ [441].

При высоком риске развития рака яичников (II патогенетический вариант) проведение профилактической СЭ может быть предложено молодым пациенткам в качестве операции, откладывающей проведение овариоэктомии до менопаузального возраста [375, 391]. Исследование «радикальная фимбриэктомия для молодых женщин-носительниц мутации BRCA» (идентификатор NCT01608074, поиск на clinicaltrials.gov), инициированное в 2011 году профессором E. Leblanc, продолжится до 2019 года. При низком риске развития рака яичников (I патогенетический вариант) овариотомия также может быть заменена профилактической СЭ [369]. Не РКИ «влияние профилактической СЭ во время тотальной лапароскопической ГЭ на ОР, как метода предотвращения рака яичников» (NCT02086344), начатое профессором F. Zullo в 2014 году, в настоящее время только закончило сбор данных.

Хирургия области тесной анатомической ассоциации кровоснабжения и иннервации придатков матки (анастомоза яичниковой артерии и трубной ветви маточной артерии на стыке мезосальпинкса и мезоварума вблизи ворот яичника) может поставить под угрозу полноценное кровоснабжение яичников и иметь потенциально неблагоприятные эффекты на функцию гонад [149]. Вместе с тем,

вопрос о влиянии профилактической СЭ на состояние ОР остается дискуссионным [369]. Непреднамеренная хирургическая агрессия на ОМТ без прямого повреждения гонад оказывает критическое влияние на ОР у пациенток с исходным снижением функции яичников. Сегодня становится понятным, что для женщин с риском спорадического рака яичников долгосрочные исследования эффективности стратегии профилактической СЭ отсутствуют.

Сальпингэктомия и послеоперационные осложнения. M. Morelli et al. (2013) показано отсутствие увеличения количества периоперационных осложнений симультанной СЭ и известных преимуществ сохранения маточных труб при ГЭ [369]. В то же время кроме онкологических рисков, присущих интактным придаткам, в литературе описаны различные осложнения операции [149, 368].

A.N. Morse et al. (2006) в исследовании случай-контроль показано увеличение частоты формирования гидросальпинксов после ГЭ у пациенток, которым ранее проведена стерилизация маточных труб [450]. Пожизненный риск хирургического вмешательства в связи с гидросальпинксом составляет 7,8% [25]. Согласно данным I. Repasy et al. (2009) у каждой третьей пациентки после ГЭ в интактных маточных трубах формируется хроническое воспаление и их дистальная окклюзия [149]. F. Ghezzi et al. (2009) показали более низкую инфекционную заболеваемость после профилактической СЭ: 3/137 (2,2%) чем при изолированной ГЭ – 14/145 (9,6%; $p=0,01$) [243].

Редким и часто не диагностированным осложнением ГЭ является пролапс маточных труб. L. Ouldamer et al. (2013) проведен систематический обзор по данной тематике [332]. Средний возраст пациенток с пролапсом маточных труб ниже такового при ГЭ (40 лет), является предрасполагающим фактором его развития, так как раннее возобновление половой жизни после операции предшествует полному заживлению влагалищного свода. Клиническая картина развивается через 1,5-12 месяцев после операции. Основные симптомы заболевания (боли в животе, диспареуния, кровянистые выделения из половых путей после коитуса, патологические бели) имеют 96% женщин, каждой четвертой пациентке требуется повторное хирургическое вмешательство [332].

Сальпингэктомия при бесплодии. Методом выбора лечения нарушенной репродуктивной функции у пациенток с окклюзией маточных труб могут быть ВРТ. Экссудат в маточной трубе при дистальной окклюзии (гидросальпинксе) является эмбриотоксичным, снижает имплантационный потенциал [346]. При наличии достоверных критериев воспалительных заболеваний ОМТ СЭ проводится по основным показаниям (гидросальпинкс). При окклюзии маточных труб и отсутствии достоверных критериев (как правило, проксимальная окклюзия) – может быть проведена профилактическая операция. Единой точки зрения на исходы ВРТ при последнем варианте нарушения проходимости маточных труб в настоящее время нет [119].

Первое многоцентровое РКИ (уровень доказательности IIa) проведено в Скандинавии A. Strandell et al. (1999) [230]. Установлена более высокая эффективность ВРТ после СЭ по сравнению с таковой у пациенток без операции в частоте имплантации (25,6% vs 12,3%, $p=0,038$) и клинических показателях беременности (45,7% vs 22,5%, $p=0,029$). N.P. Johnson et al. (2001, 2004) опубликованы кохрановские обзоры, рекомендующие проведение СЭ до ЭКО у пациенток с гидросальпинксом [419]. Вместе с тем вопрос о влиянии самого заболевания на функцию яичников остается открытым. Многие исследования показали, что не существует никакого влияния операции на гонады [84], некоторые работы не дали однозначного ответа на этот вопрос [408], а другие указали на определенное снижение функции яичников после СЭ [119]. Спустя почти 10 лет N.P. Johnson et al. (2010) уже представили данные, обсуждающие возможность достижения лучшей результативности ВРТ путём хирургической трубной окклюзии – альтернативы СЭ [419]. При дистальной окклюзии маточных труб также могут применяться органосохраняющие вмешательства сальпингонеостомия и дренирование гидросальпинкса [229, 346]. Функциональный подход, вероятно, исключает непреднамеренное воздействие на яичники, но в тоже время увеличивает риски рецидива гидросальпинксов (следовательно, повторного оперативного вмешательства) и эктопической беременности в неполноценной маточной трубе.

Сальпингэктомия и овариальный резерв. Автором проведён поиск и анализ литературы, направленный на изучение состояния ОР при удалении маточных труб по ключевым наукометрическим ресурсам: PubMed Medline, Cochrane Library. Критерии отбора информации: 1) исследования и обзоры за всё время существования баз данных, 2) поисковые запросы: # «salpingectomy» and «ovarian reserve» (or «AMH», or «FSH», or «inhibin B», or «AFC»). По результатам поиска всего найдено 25 статей, 20 из которых удовлетворяли задачам обзора. 15 источников опубликованы в последние пять лет. Исследования описывают отрицательное воздействие СЭ на ОР [218, 255, 273, 339, 461, 467, 496], косвенные доказательства снижения функции яичников [234] и данные об отсутствии влияния операции на женские гонады [148, 155, 166, 338, 340, 369, 402]. В двух работах нет прямого доказательства воздействия СЭ на ОР, что обозначено авторами как отсутствие влияния на яичники [247, 296].

Таким образом, новые открытия в молекулярной биологии процесса овариального канцерогенеза и репродукции позволили предложить научно обоснованный метод профилактики серозного рака яичников и увеличить эффективность ВРТ. Активное внедрение симультанной СЭ в клиническую практику может предотвратить повторные операции на ОМТ после ГЭ. Тем не менее после СЭ / ГЭ сохраняется риск формирования вторичной недостаточности яичников, последствия дефицита эстрогенов которого могут превышать пользу от снижения заболеваемости раком яичников, профилактики воспалительных заболеваний ОМТ. У пациенток с infertility отсутствуют долгосрочные исследования последствий предлагаемого метода.

1.4. Андрогены и старение репродуктивной системы. Роль дегидроэпиандростерона при «выключении» функции яичников

Роль андрогенов в регуляции репродуктивной функции женщин. До недавнего времени считалось, что мужские половые гормоны оказывают отрицательное влияние на фолликулогенез, рассматриваются как причина различных метаболических и функциональных нарушений. Наиболее значимым

примером негативного эффекта с точки зрения репродукции является СПКЯ, при котором гиперандрогения коррелирует с ановуляторным бесплодием, низким качеством овоцитов, нарушениями жирового и углеводного обмена [28, 197].

В течение последних 50 лет практически всё внимание в области прикладной репродуктологии направлено на гонадотропин-зависимую стадию роста фолликулов. Ранние фазы развития, особенно между ПФ и малыми антральными фолликулами, как правило, не учитываются [232]. Однако они играют критическую роль в нормальном фолликулогенезе, так как регулируют скорость рекрутирования, число развивающихся яйцеклеток и их качество [209]. Эксперименты на грызунах с выключением гена рецепторов андрогенов продемонстрировали значение мужских половых гормонов для ранних стадий роста фолликулов [394]. Клинический опыт подтверждает значение адекватного уровня андрогенов для фертильности женщин [209].

Биосинтез и транспорт половых стероидов [299]. В процессе продукции эстрогенов мужские половые гормоны являются предшественниками, поэтому важны для реализации репродуктивной функции и поддержания гормонального гомеостаза у женщин вне зависимости от возраста. Эстрогены образуются из тестостерона (Тес) путём ароматизации в фолликулярных эпителиоцитах и текальных эндокриноцитах яичников, а также в периферических тканях. Секреция андрогенов регулируется гипофизом посредством выработки ЛГ и адренокортикотропного гормона. При нормальном менструальном цикле главными мужскими половыми гормонами являются Тес и дигидротес. К прогормонам относятся ДГЭА, ДГЭАС и андростендион. ДГЭА синтезируется в сетчатой зоне надпочечников, в тека-клетках яичников, а также в печени. В постменопаузе почти все эстрогены и андрогены производятся локально в периферических тканях-мишенях из ДГЭА.

В отличие от мужчин у здоровых женщин фертильного возраста ежедневно синтезируется в 20 раз меньше Тес (0,3 мг / сутки). Менопаузальный переход сопровождается резким снижением продукции E_2 , в то время как Тес и предшественники андрогенов уменьшаются с возрастом постепенно. От

рождения до середины третьей декады жизни у женщин продукция ДГЭА постепенно увеличивается. В 35 лет концентрация прогормона ~ на 20%, а в 50 лет ~ на половину (50%) меньше значений в 25 лет. В 70-летнем возрасте у большинства людей определяется не более 10% ДГЭА от такового в молодом репродуктивном возрасте [321].

ДГЭАС и ДГЭА свободно и непрерывно взаимопревращаются. Процесс катализируется гидроксистероидной сульфотрансферазой и стероидной сульфатазой. Концентрация ДГЭАС не меняется в течение дня, в то время как секреция ДГЭА имеет суточный ритм, аналогичный кортизолу, но в отличие от последнего снижается в утренний период [42]. ДГЭАС является циркулирующей гидрофильной формой и более стабильным маркером свободного ДГЭА, так как не связан ни с каким белком, и не изменяется в течение менструального цикла. Концентрация «сульфатированного» ДГЭА крови в 300 раз выше, чем свободного. Десульфатированная липофильная форма является биологически активной и может быть преобразована в половые стероиды. Оба предшественника являются наиболее распространенными «гормонами» в организме человека, влияют более чем на 150 восстановительных функций [371].

«Интракринология». Впервые в 1984 году отделом исследований системы здравоохранения им. А. Ochsner (США) был введен термин «интракринология» [376]. Подраздел эндокринологии занимается исследованием синтеза и деградации сигнальных белков непосредственно в тканях человеческого организма. Наиболее значимой фигурой в изучении интракринального действия стероидных гормонов является Fernand Labrie [272]. Канадский эндокринолог показал, что большая часть половых гормонов (в постменопаузе до 100%) образуются в периферических тканях-мишенях из предшественников стероидов. В настоящее время интракринальное действие является правомочным звеном гуморальной регуляции наряду с другими механизмами (эндокринным, паракринным и аутокринным). При наличии специфических ферментов, в любой клетке ДГЭА трансформируется в половые стероиды. Гормоны не покидают клетки и не проникают во внеклеточное пространство или общий кровоток.

Клиническая практика. Снижение стероидов с возрастом является общим, связано с уменьшением секреции гормонов гипофиза, надпочечников и гонад. Дефицит андрогенов у женщин характеризуется снижением либидо, плохим самочувствием, депрессией, снижением мышечной массы и длительной беспричинной усталостью, часто сопряжён с низкими значениями общего и свободного Тес при нормальном уровне эстрогенов [72]. Терапия андрогенами у женщин впервые проведена в 1936 г. с целью облегчения вазомоторных симптомов [374]. 10 лет назад после официального одобрения Европейским медицинским агентством Тес для лечения сексуальной дисфункции у женщин после овариоэктомии началась новая эра применения андрогенов [152]. В настоящее время Тес применяется при различных заболеваниях и состояниях у женщин как off-label лечение при добавлении к традиционной менопаузальной ГТ или в виде монолечения [11].

Направленная медикаментозная коррекция нарушений возрастного дефицита стероидов Тес и натуральными эстрогенами показала высокую клиническую эффективность [42]. Учитывая эссенциальную роль предшественников половых стероидов в менопаузальном периоде, предложено использовать ДГЭА [345].

Первоначальные РКИ установили эффективность ДГЭА-заместительной терапии в лечении половой дисфункции и климактерического синдрома [139]. Было показано, что у женщин с надпочечниковой недостаточностью прогормон демонстрирует улучшение качества жизни и снижение уровня депрессии [39]. Другие работы показали отсутствие преимуществ ДГЭА-лечения в перименопаузальном возрасте [38, 286]. Систематический обзор и мета-анализ РКИ, проведённый А.А. Alkatib et al. (2009), показал, что несмотря на некоторое положительное влияние прогормона на сексуальное благополучие, от рутинного перорального применения ДГЭА у женщин с надпочечниковой недостаточностью стоит отказаться [39]. Клинический обзор применения ДГЭА у женщин в постменопаузе с нормальной функцией надпочечников, проведённый Т. Elraiyah et al. (2014) пятью годами позже, также демонстрирует

отсутствие существенного влияния прогормона на климактерические симптомы и отдельные маркёры метаболизма [102]. Вместе с тем, высказано предположение, что эффективность зависит от способа введения. Более востребованным, например, для лечения атрофического постменопаузального вульвовагинита может быть вагинальный путь введения [146].

Последний кохрановский обзор, проведённый в 2015 году C.S. Scheffers et al., включал данные 28 исследований (16 для мета-анализа) и 1273 женщин в пери- или постменопаузе [122]. Исследователями показано, что по сравнению с плацебо, ДГЭА не улучшает качество жизни (SMD 0,16; 95% CI 0,03-0,34, $p=0,10$; $I^2=0\%$, среднее качество доказательств), но значительно влияет на сексуальную функцию (SMD 0,31; 95% CI 0,07-0,55, $p=0,01$; $I^2=0\%$), также, как и традиционная менопаузальная ГТ (SMD 1,26; 95% CI -0,21-2,73, $p=0,09$; $I^2=0\%$), и вне зависимости от способа применения ($p=0,360$, $I^2=0\%$). Оценка других исходов – симптомов менопаузы, не проведена по причине отсутствия последовательности представленных работ и различных типов измерений.

По оценке эффективности и безопасности применения ДГЭА у женщин с симптомами менопаузы в литературе имеется два ключевых систематических обзора и мета-анализа, опубликованных в последние два года [102, 122]. В целом выводы авторов аналогичны: выраженных негативных эффектов прогормона нет. Клинически значимый результат в отношении отдельных климактерических проявлений рассматривается как тенденция в виду низкого качества доказательств. Максимальный срок использования ДГЭА-содержащих добавок включает период не более двух лет, в целом показывает неопределённость относительно эффективности и безопасности применения прогормона в отношении гормонозависимых опухолей, сердечно-сосудистых рисков и смертности в течение более длительного лечения.

Помимо климактерических симптомов многочисленные биологические роли ДГЭА в организме человека также сопровождалось поиском благоприятных эффектов прогормона при нарушениях физического и психического состояний, метаболических нарушениях, сердечно-сосудистых,

цереброваскулярных и аутоиммунных заболеваниях [42, 321]. Количество обзоров относительно терапии прогормоном возраст-ассоциированных патологий невелико, однозначных выводов нет.

Дегидроэпиандростерон в репродуктологии. Исход программ ВРТ во многом зависит от состояния ОР, а старение гонад является фактором риска «бедного ответа». При «выключении» функции яичников в протоколах ЭКО / ИКСИ снижается количество получаемых овоцитов, формируются эмбрионы худшего качества, что приводит к уменьшению частоты имплантации и живорождения. Высокая доля низкой ответной реакции яичников на экзогенную стимуляцию гонадотропинами (до 1/4 всех протоколов) обуславливает поиск новых режимов лечения с включением в схемы разнообразных методов адьювантной терапии [227]. Несмотря на то, что воздействие на гонадотропин-независимую стадию роста фолликулов является перспективным, ни один из методов претритмента (иммунотерапия, вазодилататоры, маточные релаксанты, аспирин, гепарин, гормон роста, натуральные эстрогены) в настоящее время не обладает выраженными преимуществами, чтобы получить статус клинической рекомендации высокого уровня доказательности [87, 251].

Так как ДГЭА может иметь положительный эффект при андроген-дефицитном состоянии у женщин в период менопаузы, была предложена гипотеза об улучшении реакции гонад и показателей беременности у женщин со сниженным ОР в протоколах ЭКО. Однако клинические данные и точные механизмы лечебного эффекта ДГЭА по-прежнему ограничены [156]. P.R. Casson et al. (2000) впервые использовали ДГЭА в качестве претритмента [123]. Авторы показали увеличение сывороточной концентрации ИПФР-1 в 1,5 раза и указали на клинический потенциал прогормона. Фактор роста потенцирует действие гонадотропинов, положительно влияет на фолликулярный рост и качество овоцитов. Кроме того, андрогены могут непосредственно влиять на развитие фолликулов, локальное действие опосредовано рецепторами андрогенов [225, 483]. ДГЭА улучшает качество микроокружения фолликулов за

счёт: ИПФР-1 опосредованного действия, ЛГ-стимулированной продукции стероидов, усилении экспрессии ФСГ-рецептора в фолликулярных эпителиоцитах. Клинические эффекты проявляются увеличением растущих преантральных и малых антральных фолликулов [242, 482]. Не исключено действие прогормона прямо или косвенно на овоцит: повышение репарации ДНК в половых клетках [129] и активности митохондрий в них и гранулёзе [379].

Автором проведён поиск литературы, направленный на изучение клинической эффективности и безопасности ДГЭА при лечении бесплодия в течение последних пяти лет (01.2012-12.2016) по ключевым наукометрическим ресурсам: PubMed Medline, Cochrane Library. Критерии отбора информации: 1) женщины репродуктивного возраста, проходящие лечение бесплодия, 2) применение ДГЭА, 3) описание клинического эффекта и /или вреда, 4) изолированная или комплексная оценка ДГЭА (+ другие адъюванты), 5) поисковые запросы: # «DHEA» and «ART» (or «IVF», or «infertility»). Всего найдено 6 систематических обзоров и мета-анализов, 7 РКИ и 15 не РКИ.

Согласно двум систематическим обзорам и мета-анализам [156, 453], клинической эффективности ДГЭА не обнаружено. Вместе с тем, все без исключения систематические обзоры и мета-анализы, проведённые в течение последних двух лет, описывают значительные преимущества терапии прогормоном [32, 51, 124, 373].

Последний мета-анализ, опубликованный в августе 2016 года M. Zhang et al., включал максимальное число работ [124]. Систематизированы данные 21 исследования за период с 1980 по 2015 гг. Авторами впервые показано не только увеличение частоты клинической беременности (1,53 RR; 95% CI 1,25-1,86), живорождения (1,87 RR, 95% CI 1,22-2,88) и имплантации (1,56 RR; 95% CI 1,20-2,01), но и положительное действие прогормона на ОР – увеличение количества антральных фолликулов (WMD 0,4; 95% CI 0,14-0,66) и концентрации АМГ; а также значимое снижение доли выкидышей (0,50 RR; 95% CI 0,27-0,90).

Ни в одном из представленных обзоров нет выводов об абсолютной безопасности ДГЭА добавок, и практически все проведены с участием пациенток

так или иначе имеющих снижение ОР. Вместе с тем, в литературе имеются работы по влиянию прогормона на результативность ЭКО у пациенток с нормальным ОР, опубликованные в последние 1,5 года [31, 141, 353].

Двойное слепое, плацебо-контролируемое РКИ M. Tartagni et al. (2015) показало, что использование ДГЭА в дозе 75 мг в сутки в течение 8 недель демонстрирует более высокий уровень живорождения ($p < 0,05$), низкий уровень выкидышей ($p < 0,05$) [353]. Ретроспективный анализ X. Liu et al. (2016) показал аналогичные результаты: частоты имплантации и живорождения выше таковых в контроле (30% vs 23% и 43% vs 28%, соответственно) [141]. Однако последнее РКИ установило прямо противоположный результат [31]. Дизайн работы T. Yeung et al. (2016) был подвергнут объективной критике N. Gleicher (2016). Автор сравнил применение ДГЭА у женщин с сохранным ОР с «исследованием аспирина при головной боли у пациентов, не имеющих головную боль», и указал на необходимость использования прогормона только при андроген-дефицитном состоянии (сниженном ОР) [208]. Тогда становится непонятным положительное действие препарата в первых двух исследованиях. Вероятно, более старший возраст (36-40 лет) у пациентов в этих работах сопряжён с субоптимальными показателями ОР и «бедным ответом» (болонские критерии не учитывались). Мощность обоих исследований также выше: объёмы выборок составляли 109 и 243 пациентки (в 1,5-3,5 раза больше таковой у T. Yeung et al., 2016).

Основные эффекты прогормона у пациенток с субфертильностью могут включать: увеличение количества овоцитов [75] и частоты сингамии [75], повышение доли эмбрионов хорошего качества [75] и частоты наступления беременности [76], снижение доли выкидышей [300] и частоты анеуплоидии [204]. В настоящее время в США практически всем женщинам с бесплодием старше 40 лет предлагается рутинный приём микронизированного ДГЭА в дозе 25 мг 3 раза в сутки (при ожирении суточная доза 100 мг) в течение 3-4 месяцев для достижения максимального эффекта (времени, равному сроку достижения фолликулом гонадотропин-зависимой стадии роста) [206]. В более молодом возрасте практика применения выборочная, исходит из оценки ОР.

Неоправданные ожидания. Теоретическое обоснование целесообразности применения ДГЭА не вызывает сомнения. Прогормон обеспечивает периферические ткани половыми стероидами в соответствии с местными потребностями и исключает воздействие андрогенов и эстрогенов на другие ткани, сводя к минимуму нежелательные побочные эффекты. К. Lois et al. (2014) определяют действие ДГЭА как «гормональную оптимизацию» [42]. Экстраполяция экспериментальных данных на человека превратила ДГЭА в «супергормон» и панацею против старения. Вместе с тем, многообещающие результаты научных экспериментов не всегда находят своё подтверждение в клинике [121]. Несоответствие эффективности прогормона между людьми и животными может быть связано с небольшим количеством эндогенного ДГЭА у грызунов из-за низких уровней цитохрома P450 17 α -гидроксилазы, а также различного метаболизма у видов [236]. У грызунов ДГЭА имеет много высоко окисленных метаболитов и сложный обмен веществ, что приводит к получению множества активных молекул, потенциально благоприятных для различных биохимических процессов [292].

Таким образом, анализ литературы показал, что практические выводы большинства интервенционных исследований часто являются статическими и лишены клинического смысла, так как проведены на небольших выборках, без учёта возраста и / или являются непродолжительными. Несмотря на отсутствие существенных отрицательных побочных эффектов большинство последних обзоров относительно ДГЭА-заместительной терапии старения не поддерживает его рутинное применение в клинической практике по причине несоответствия высоким критериям доказательной медицины [42]. Опираясь на данные мета-анализа М. Zhang et al. (2016), применение ДГЭА при недостаточности яичников, вероятно, является единственным исключением. Учитывая известные биохимические эффекты ДГЭА, его хорошую переносимость, невысокую стоимость для оценки безопасности и эффективности при конкретных условиях необходимы хорошо спланированные экспериментальные и крупные мульти-ориентированные клинические исследования.

Г Л А В А 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Экспериментальная часть

Животные. Эксперимент выполнен на половозрелых крысах-самках массой 180-220 грамм. Аутбредный сток Wistar получен в ФГБНУ НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (г. Томск). Выбор объекта обусловлен высокой репродуктивной способностью, идентичностью генома крысы и человека ~ на 80%, закономерностями регуляции овариально-менструального цикла, наиболее близкими к таковым у женщин, наличием спонтанной овуляции и небольшой длительностью эстрального цикла (4-5 суток), обуславливающей возможность изучения состояния яичников в динамике в течение короткого срока [448]. Нокаутированные и гибридные особи для изучения наиболее частых гинекологических эндокринопатий являются сложными и гетерогенными для интерпретации таковых у человека [228].

Условия содержания. Приём и уход за животными проводились на базе вивария ЦНИЛ ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий – д-р мед. наук, профессор А.Н. Байков) в соответствии с рекомендательными документами агропромышленного комплекса Министерства сельского хозяйства РФ (РД-АПК 3.10.07.02-09, «Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений», утверждены 01.12.2009). Животные находились в пластиковых клетках с подстилкой из опилок. В каждую клетку были помещены 5-6 крыс. Стандартные условия содержания: освещение (12:12 часов, свет в дневные часы), влажность (50-65%), контролируемый температурный режим (18-22⁰С). Режим питания: брикетный (гранулированный корм ПК-120-3, зерно пшеницы и овса) с добавлением овощей и творога, доступ к воде и пищи свободный. Перед переводом в экспериментальную секцию животные находились в изолированных боксах для адаптации к новым условиям. Длительность карантина составляла 14 суток. Экспериментальные воздействия

осуществляли в осенне-зимний период для исключения влияния сезонных колебаний. Ежедневно всех животных осматривали, отмечали их общее состояние, внешний вид, поведение, регистрировали двигательную активность и пищевую возбудимость, массу тела измеряли на медицинских весах. После проведения оперативного вмешательства контролировали состояние лапаротомных швов, отмечали выраженность симптомов раздражения брюшины.

Этические нормы. Научные процедуры осуществляли в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (ETS № 123)» (Страсбург, Франция, 1986), принципами Хельсинкской декларации (9-й пересмотр 64-й Генеральной Ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации, Форталеза, Бразилия, 2013), правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных («О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», приказ МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г). Проведённые исследования одобрены Этическим комитетом ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (протокол № 3634 от 31/03/2014).

Научная база. Для приближения эксперимента к клиническим условиям оперативные воздействия на крысах осуществлялись в позднем репродуктивном возрасте. В литературе предложены три основные модели менопаузы: естественное репродуктивное старение и гипоталамо-гипофизарная десенсбилизация (гемиовариоэктомия и применение овотоксинов) [86, 183, 267]. Последние два прототипа не отвечали поставленным задачам опыта, так как нефизиологическим образом приводили к ОН, и изучить изолированный эффект радикальных операций на матке и маточных трубах в возрастном аспекте не представлялось возможным. Крысы достигали половозрелости в 3-6 месяцев, а эндокринным эквивалентом перименопаузы у женщин служил возраст животных 9-10 месяцев [86, 265].

Вагинальные мазки. Животным проводили кольпоцитологическое исследование для определения стадии эстрального цикла и эстрогенной

насыщенности организма [317]. Влагалищные мазки у крыс брали ежедневно путём смыва содержимого влагалища дистиллированной водой из пипетки на предметное стекло с последующей окраской водным раствором метиленовой сини. Оценку производили по содержанию эпителиальных клеток, содержащих ядра (N), ороговевших поверхностных клеток (С) и лейкоцитов (L). Проэструс, эструс, метаэструс и диэструс у крыс соответствовали десквамации, регенерации, пролиферации и фазе секреции у женщины. Согласно J. LeFevre & M.K. McClintock (1988) все мазки классифицированы как эпителиальные (E) при > 80% ороговевших / содержащих ядра эпителиальных клеток (проэструс и эструс) и лейкоцитарные (L) при > 20% лейкоцитов (метаэструс и диэструс). Мазки с высокой степенью пролиферации вагинального эпителия не критически отождествлялись с высокой «эстрогенной насыщенностью» организма, однако по мнению М.Г. Арсеньевой (1977) этого недостаточно для правильного суждения о функции яичников. Оперативные вмешательства выполнялись в стадию раннего диэструса (~ 2 сутки после эструса).

Методы воздействия. Исходя из поставленных задач индуцированы модели электрохирургического (ЭХ) лечения (распространённых гинекологических операций): ГЭ, СЭ и их сочетания, проведены изучение морфофункционального состояния яичников, анализ результатов иммуногистохимического и гормонального исследований при экспериментальных воздействиях.

За основу модели ЭХ лечения взята методика коагуляции яичников, предложенная И.Ю. Бухариной (2003). Разработана авторская модификация, суть которой состояла в замене монополярного режима коагуляции на биполярный, а также увеличении точек приложения (коагуляция яйцеводов / маточных рогов). В контексте проведённого исследования очевидными преимуществам биполярной коагуляции могли быть минимальные риски ожогов и прилипания тканей к инструменту, малые токи утечки и электрические наводки. Для эксперимента разработан биполярный электрод с тонкими branшами (ширина рабочей поверхности 1-1,5 мм), что позволило минимизировать воздействие на яичники, особенно в перифокальной зоне, и

максимально приблизить эксперимент к клинической практике. Для коагуляции использовали аппарат ЭХ высокочастотный С-350 РЧ “Электропульс” (г. Томск, регистрационный номер: 42/99-1038-1411; сертификат соответствия № РОСС RU.МЕ41.В02148). Мощность коагуляции и время экспозиции подобраны с учётом объёма, типа тканей и необходимой глубины воздействия, согласно рекомендациям разработчиков. Воздействие на ОМТ производились при мощности (2-4 Вт) и времени экспозиции (1-1,5 сек).

Анестезия. Оперативное вмешательство проводили в асептических условиях под однократной внутримышечной анестезией золетилом 50, содержащим 125мг тилетамина гидрохлорида и 125мг золазепам гидрохлорида («Virbac Sante Animale», Франция) из расчета 0,1 мг на 1 кг массы тела экспериментального животного.

Техника операции. Животных фиксировали в положении на спине. Операционное поле обрабатывали 70% хлоргексидиновым спиртом. Производили нижнесрединную минилапаротомию на протяжении 1,0-1,2 см. Скальпелем послойно рассекали кожу и подкожно-жировую клетчатку, фасцию, мышцы и брюшину. Маточные рога при помощи зажимов с браншами 5 мм последовательно выводили в рану для доступа к придаткам матки, обкладывали стерильными салфетками, увлажнёнными 0,9 % NaCl. Для минимизации интраоперационного кровотечения и преднамеренного воздействия на гонады частично использованы техники ГЭ, предложенные М. С. Shelesnyak & Н. Schwarz (1944), В. Ranney, В.М. Peckham, R.R. Greene (1949).

В зависимости от серии опытов производили: 1) коагуляцию 2-3 участков коркового вещества яичников при размерах фрагментов ≤ 8 мм³ вдали от ворот и яйцеводов; 2) коагуляцию обоих яйцеводов, захватывая каждый целиком браншами биполярного зажима таким образом, чтобы рабочая поверхность электродов не касалась гонад; 3) коагуляцию или лигирование маточных рогов как можно ближе к шейке матки в дистальном направлении и отступя 3-5 мм от трубно-маточного перехода в проксимальном направлении; 4) сочетание коагуляции яйцеводов с удалением маточных рогов по вышеописанной методике

(рис. 2.1.1). Оперативное вмешательство проводили в соответствии с принципами безопасности в ЭХ [103]. После контроля гемостаза брюшная полость послойно (2 слоя) ушивалась наглухо (2-3 шва на каждый слой) узловыми швами стерильной синтетической рассасывающейся нитью викрил w9114 3/0 с атравматической иглой фирмы Johnson & Johnson, Ethicon (США). В конце операции операционная рана обрабатывалась 5% спиртовым раствором йода, однократно профилактически в/м вводился антибиотик широкого спектра действия – цефтриаксон (азаран, № П N015049/01, 2008-10-31, Nemofarm, Сербия) из расчета 100 мг на 1 кг массы тела экспериментального животного. Длительность операции – 8-15 минут.

При выполнении хирургических манипуляций стремились приблизить эксперимент к аналогичным эндоскопическим операциям в клинике: малый лапаротомный доступ с минимальной кровопотерей и травматизацией, коагуляция зон интереса на значительном расстоянии от гонад, предотвращение высушивания тканей незначительными мощностью коагуляции и временем экспозиции, использование биполярной коагуляции и техники «step by step» (последовательное применение электрической энергии для коагуляции и механической для рассечения тканей), безопасный шовный материал, антибиотикопрофилактика.

Эвтаназия. Вывод крыс из эксперимента осуществлялся в соответствии с рекомендациями «Американской ветеринарной медицинской ассоциации» (AVMA, 2013). Эвтаназия проводилась декапитацией животных под общей анестезией золетилом. Отработанный биологический материал утилизировали в специальные контейнеры через ЦНИЛ СибГМУ.

Объекты исследования. При аутопсии визуально оценивали состояние ОМТ: наличие и характер выпота, состояние брюшины, измеряли размеры и $V_{я}$, отмечали характер структуры коркового вещества, наличие кровоизлияний. $V_{я}$ определяли с помощью измерительного цилиндра (мензурки) путём погружения в воду. Величина объёма органа соответствовала разнице V жидкости до и после погружения. Объектами исследования служили гонады и кровь животных.

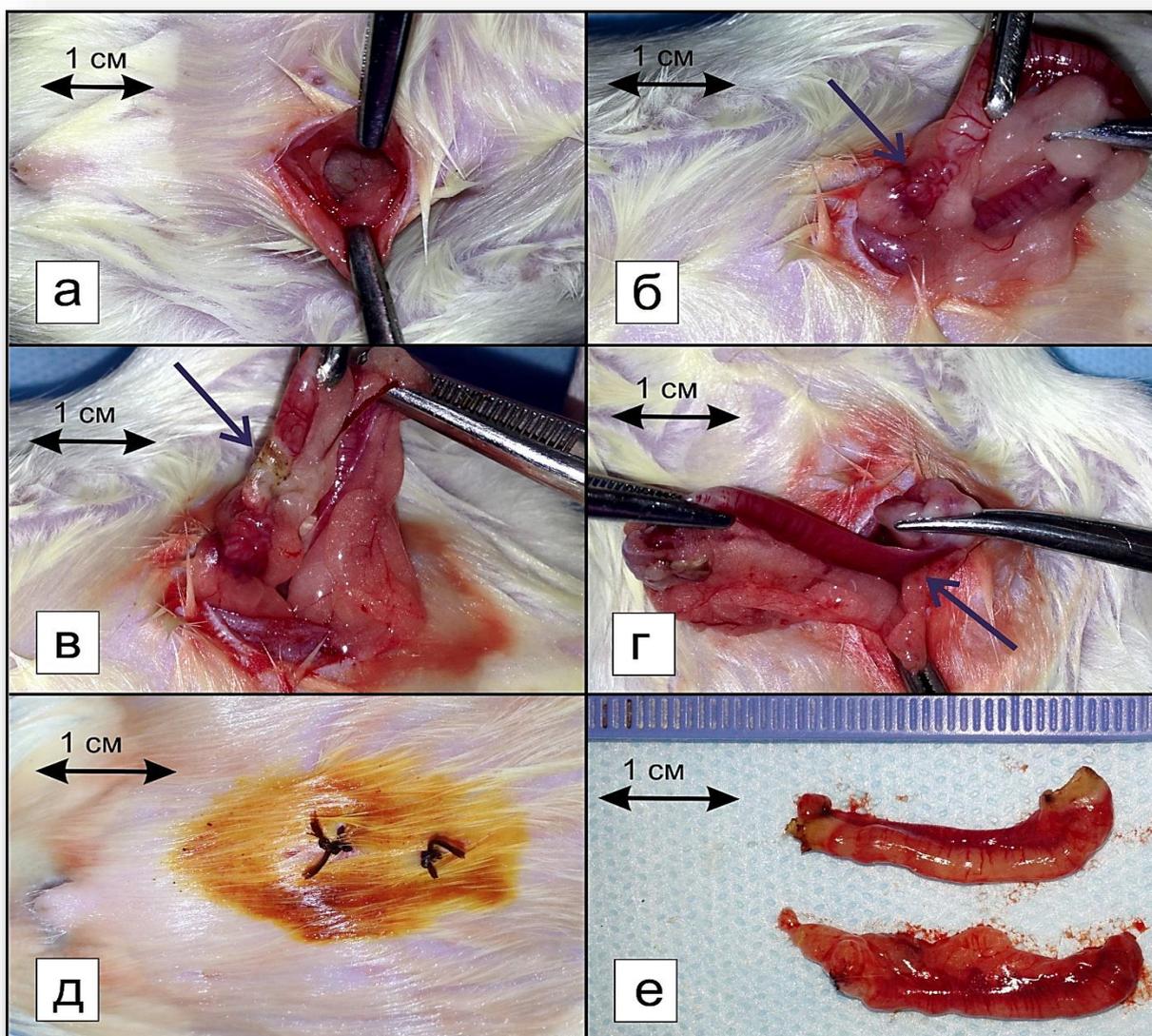


Рис. 2.1.1. Этапы операций у экспериментальных животных. а – доступ к органам брюшной полости; б – доступ к яйцеводам, гонадам и маточным рогам в проксимальном направлении, яйцевод (стрелка), яичник не виден; в – коагуляция маточного рога (стрелка) перед пересечением; г – доступ к маточным рогам в дистальном направлении, тело матки (стрелка); д – швы на коже; е – макроскопический вид удалённых маточных рогов.

Для предотвращения аутолиза сразу после извлечения гонады незамедлительно (5-10 минут) погружали в фиксирующий раствор [317]. Забор крови для гормонального исследования проводили под общей анестезией зоветилом перед декапитацией путем пункции сердца. Объем получаемой крови составлял 4-8 мл. Крыс фиксировали в положении на спине. Укол делали вертикально и перпендикулярно грудине, отступив от её края слева 2 мм, краниальнее на 1 см от пальпаторно определяемого места конечного толчка сердца. После извлечения кровь центрифугировали для получения сыворотки, которую в дальнейшем хранили при температуре -20°C .

Длительность опытов. Забор объектов для последующих гистологических, электронно-микроскопических, иммуногистохимических и гормональных исследований производили с учётом продолжительности нормального менструального цикла и жизни у лабораторных животных и человека, исходя из задач исследования на 2, 10, 30, 40 и 60-е сутки опыта. Выбор сроков наблюдения обусловлен необходимостью оценки краткосрочных изменений в гонадах при использовании моделей (2-е сутки), нивелированием операционного стресса (10-е сутки) и реактивностью организма / завершением раневого процесса (30-е сутки) с одной стороны, сравнительным аспектом исходя из дизайна исследования (40-е сутки), наблюдением возрастной динамики и анализом долгосрочного влияния на функцию яичников (60-е сутки) – с другой.

Дизайн исследования. Проект аналитического исследования, проспективное сравнительное случай-контроль, представлен на рис. 2.1.2. Проведено 8 серий опытов на 148 животных. Крысам основной группы ($n=118$) проводили лапаротомию и различные объёмы вмешательств на гениталиях (группа 1), включающие четыре главных блока: воздействие на яичники (безусловное формирование вторичной ОН), удаление матки (возможное формирование вторичной ОН, вклад ЭХ и механической энергии), удаление маточных труб (возможное формирование вторичной ОН), одномоментное удаление матки и маточных труб (возможное формирование ОН, сравнительный аспект).

Серии опыта, методы воздействия, количество животных		Сутки опыта, методы исследования						
		2	10	29	30	40	60	
1	Оперативное воздействие (n=118)	Основная группа						
		Группа 1.1 ЭХ яичников (n=20)	1.1.1 СМ, ЭМ, Г	1.1.2 СМ		1.1.3 СМ		1.1.5 СМ
		Группа 1.2.1 удаление маточных рогов, ЭХ+ (n=24)	1.2.1.1 СМ	1.2.1.2 СМ, Г		1.2.1.3 СМ		1.2.1.5 СМ
		Группа 1.2.2 удаление маточных рогов, лигирование+ (n=15)		1.2.2.2 Г		1.2.2.3 Г		1.2.2.5 Г
		Группа 1.3 удаление яйцеводов, ЭХ+ (n=24)	1.3.1 СМ	1.3.2 СМ, Г		1.3.3 СМ, Г		1.3.5 СМ
		Группа 1.4.1 удаление маточных рогов и яйцеводов, ЭХ+ (n=30)	1.4.1.1 СМ, Г, ИГХ	1.4.1.2 СМ, Г, ИГХ		1.4.1.3 СМ, Г, ИГХ	1.4.1.4 СМ, Г	1.4.1.5 СМ
		Группа 1.4.2 удаление маточных рогов и яйцеводов, лигирование+ (n=5)				1.4.2.3 Г		
2	Оперативное воздействие + ДГЭА (n=18)	Сравнения группа						
		Группа 2 удаление маточных рогов и яйцеводов (биполярная коагуляция)	ДГЭА 5 мг/кг сут (со 2-х по 29- е сутки после операции (всего 28 суток)			2.3 СМ, Г (2-е сут после введения)	2.4 СМ, Г (10-е сутки после введения)	2.5 СМ (30-е сутки после введения)
3	Ложно- оперирован- ные (n=12)	Контрольная группа						
		Группа 3	3.1. СМ, Г, ИГХ	3.2 СМ, Г, ИГХ		3.3 СМ, Г, ИГХ	3.4 СМ, Г	3.5 СМ, Г

Рис. 2.1.2. Дизайн эксперимента. ЭХ – электрохирургическое воздействие, СМ – световая микроскопия, ИГХ – иммуногистохимическое исследование, ЭМ – электронная микроскопия, Г – гормональное исследование

Соответственно первой подгруппе животных (1.1, n=20) проведена биполярная коагуляция обоих яичников, второй – удаление маточных рогов с использованием электрической (1.2.1, n=24) или механической энергии (1.2.2, n=15), третьей – биполярная коагуляция яйцеводов (1.3, n=24)¹, четвёртой – удаление маточных рогов и яйцеводов с использованием электрической (1.4.1, n=30) или механической энергии (1.4.2, n=5). Таким образом, принципиальным элементом основной группы являлись животные с сочетанным объёмом вмешательства и использованием биполярной коагуляции (подгруппа 1.4.1).

Группе сравнения (2, n=18) первоначально проведен объём оперативного вмешательства, аналогичный таковому в подгруппе 1.4.1 (ЭХ одномоментное удаление маточных рогов и яйцеводов). Со 2-х суток после операции крысам при помощи внутрижелудочного зонда *per os* вводили биологически активную добавку, содержащую ультра-микронизированный ДГЭА «Micron 5 DHEA» («McPherson Labs», США), в 1% крахмальной слизи в дозе 5 мг на 1 кг в сутки в течение 28 суток.

Контрольную группу (3) составили ложнооперированные крысы (n=12).

2.1.1. Морфологические методы

Приготовление гистологических препаратов и анализ выполнялись на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии (заведующий – д-р мед. наук, профессор С.В. Логвинов).

Фиксация. Тотчас после забора яичники помещали в 12% нейтральный формалин не менее чем на 24 часа, после промывали проточной водой.

Обезвоживание и уплотнение материала. Удаление «лишней» воды производилось погружением объектов в спирт восходящей концентрации (70%, 80%, 96%, 100% этанол по 24 часа в каждом). Далее образцы выдерживались в смеси этанол-толуол и чистом толуоле, помещались в смесь толуол-парафин и затем в жидкий парафин на 1-2 ч при 52-56⁰С. После остывания и затвердевания

¹ Серия опытов выполнена совместно с аспирантом кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России И.И. Куприяновой

парафина вырезали блоки с заключёнными яичниками и закрепляли на деревянном кубике. В таком виде хранили при комнатной температуре.

Приготовление срезов. Среды изготавливали при помощи ротационного микротомы. Оптимальная толщина составляла 4-6 мкм.

Окраска срезов. Для окраски базофильных и оксифильных структур использовали гематоксилин и эозин. В результате ядра приобретали синевато-фиолетовый цвет, цитоплазма – желтовато-розовый. Депарафинизация проводилась толуолом (3-5 мин) и спиртами нисходящей концентрации (96%, 80%, 70% по 3 мин). Затем срезы помещались в дистиллированную воду (5 мин). Окраска гематоксилином осуществлялась в течение 8 мин. После промывки в дистиллированной воде (5 мин) дифференцировка проводилась в 1% соляной кислоте на 70% этаноле до побурения, в 0,5% растворе аммиака после промывки в дистиллированной воде до посинения срезов. Длительность окраски водным раствором эозина составляла 45 сек. Избыток красителя устранён тремя порциями дистиллированной воды, которая удалялась одной порцией 70% и двумя порциями 96% этанола по 2 мин. Срезы просветлялись (в течение 1 мин) и окончательно обезвоживались в толуоле (2 мин). Финальное приготовление препаратов включало заключение в канадский бальзам под покрывное стекло.

Для окраски соединительной ткани (коллагеновых волокон) использовали пикрофуксин по Ван-Гизону. В результате коллагеновые волокна окрашивались в пурпурно-красный цвет, а элементы других тканей (цитоплазма) – в жёлтый цвет. Для визуализации ядер (чёрный цвет) использовался железный гематоксилин Вейгерта. Депарафинизация проводилась аналогично способу, описанному выше при использовании гематоксилина-эозина. После промывки в дистиллированной воде (5 мин) производилась окраска железным гематоксилином Вейгерта в течение 10 мин. Далее срезы промывались в проточной воде (10 мин) и окрашивались пикрофуксином (10 мин). После быстрой промывки в дистиллированной воде (2-3 сек) проводилась дегидратация в спиртах возрастающей концентрации (последовательно в двух порциях 96% этанола быстро, одной порции абсолютного этанола в течение 1 мин) и

просветление в толуоле (две порции, в каждой по 1 мин). Финальное приготовление срезов включало заключение в нейтральный бальзам под покровное стекло.

Гистологические срезы просматривали в микроскопе «МИКМЕД-5У» (АО Ломо, Россия) при увеличениях окуляра $\times 15$, объектива $\times 8$, $\times 20$ и $\times 40$. Цифровые фотографии получены с помощью микроскопа «AXIOSTAR APLAN» (Carl Zeiss Inc., Германия) с блоком фотодокументирования на основе цветного цифрового фотоаппарата «Canon G10» (Canon Inc., Япония), обработаны и проанализированы в базовом программном обеспечении AxioVision Rel. 4.8.2 (Carl Zeiss GmbH, Германия) и графическом редакторе CorelDRAW Graphics Suite X8 (Corel Inc., Канада).

Морфоколичественный анализ. Морфометрические исследования проводили в соответствии с рекомендациями Г.Г. Автандилова (1990). Для морфоколичественного анализа структурной перестройки тканевых компонентов яичников использовали окулярную измерительную сетку, состоящую из большого квадрата, содержащего 25 точек. В определении удельных объёмов применяли фундаментальный в стереологии принцип Кавальери-Акера-Глаголева: отношение числа точек, попавших на объект, к общему числу точек (P_p) равно удельной площади сечения объектов (S_v) и равно удельному объёму объектов (V_v) в образце, т.е. $P_p = S_v = V_v$. При измерении объёмных соотношений учитывали количество точек окулярной сетки, случайно совпадающих с изучаемыми структурами. Для обеспечения 5% уровня значимости ($p \leq 0,05$) считали не менее 100 квадратов в каждом яичнике. Для изучения межтканевых взаимоотношений исследовали динамику удельного объёма основных структурно-тканевых элементов яичника: овоцитов, zona pellucida, эпителиоцитов яйценосного бугорка, гранулёзы, наружного и внутреннего слоя теки, полостей фолликулов, РФ, атретических фолликулов (АФ), жёлтых тел (ЖТ), стромы и сосудов (артерий и вен). Подсчёт ПФ, АФ, ЖТ и РФ (первичных – ПРФ, вторичных – ВРФ, третичных – ТРФ), проводили на серийных срезах через каждые 250-300 мкм ткани яичника.

Ультраструктурные методы. Изучение ультраструктуры яичников проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии. Материал фиксировали в забуференном 0,1 М какодилатным буфером (pH = 7,4) 2,5% растворе глутарового альдегида в течение 2 часов по D.D. Sabatini, K. Bensch, R.J. Barnett (1963) при температуре 4⁰С. Далее промывали какодилатным буфером (pH = 7,4), постфиксировали в 1% растворе четырехокси осмия, дегидратировали в этиловых спиртах восходящей концентрации и заключали в смесь смол эпон-аралдит. Полутонкие срезы толщиной 1 мкм окрашивали толуидиновым синим. После выбора блоков, содержащих необходимые объекты, приготавливали ультратонкие срезы. Ультратонкие срезы толщиной 60-100 нм готовили по методике Б. Уикли (1975) на ультротоме “Ultrotom III” (“LKB”, Швеция). Полученные срезы наносили на медные сетки с формваровой пленкой-подложкой и контрастировали 2% раствором уранилацетата на 50% этаноле и цитратом свинца по E. Reynolds (1963). Полученные препараты просматривали и фотографировали в электронном микроскопе «JEM-100 CXII» (JEOL, Ltd., Япония) с апертурной диафрагмой 25-30 мкм при ускоряющем напряжении 80 кВ и «JEM-7A» (JEOL, Ltd., Япония).

2.1.2. Методы гормонального исследования

С целью выявления влияния экспериментальных воздействий на яичники подопытных животных в сыворотке крови в различные сроки опыта определяли концентрации АМГ, ФСГ, ингибина В и Тес с помощью иммуноферментного анализа в соответствии с инструкциями производителя. Для определения содержания АМГ и ингибина В использовали наборы реагентов ELISA AMH Gen II Reagents (A79765), ELISA Inhibin-B Gen II Reagent Kit (A81303) Beckman Coulter, Inc. (США), соответственно; Тес и ФСГ – стероид-ИФА-тестостерон (№ 100-03), гонадотропин-ИФА-ФСГ (№ 100-06) Алкор Био (Россия), соответственно.

Исследование всех образцов сыворотки производили одновременно при одинаковых условиях. Разморозка проводилась при комнатной температуре,

после сыворотка тщательно перемешивалась. Составляли протокол маркировки лунок, в которые в последующем вносили калибровочные пробы, контрольные и исследуемые сыворотки, во все лунки добавляли соответствующий конъюгат и инкубировали. Во время инкубации устанавливалось равновесие между конъюгатом и эндогенным исследуемым гормоном таким образом, что количество последнего в образце плазмы оказывалось обратно (Тес) или прямо (АМН, ФСГ, ингибин В) пропорциональным количеству конъюгата. Затем содержимое лунок удаляли декантированием и несколько раз промывали промывочным буфером, после чего немедленно вносили проявляющий раствор (тетраметилбензидин) и инкубировали при комнатной температуре в темноте. В результате происходило окрашивание раствора. В той же последовательности и с той же скоростью в лунки добавляли стоп-реагент для остановки ферментной реакции и встряхивали на шейкере. При помощи спектрофотометра вертикального сканирования измеряли оптическую плотность (интенсивность окраски) раствора при длине волны 450 нм. Содержание исследуемых гормонов в пробах определяли по калибровочному графику.

2.1.3. Методы иммуногистохимического исследования

Иммуногистохимическое исследование экспрессии АМГ, Сх37, BMP15 проводили методом высокотемпературной демаскировки антигена на парафиновых срезах с использованием стрептавидин-биотиновой системы детекции фирмы Abcam®PLC (Великобритания) Rabbit Specific HRP/DAВ (ABC) Detection IHC Kit (каталожный номер ab64261). Выбор реактивов для исследования осуществлялся с учётом кроссреактивности. Для иммуногистохимического исследования использовали поликлональные первичные антитела фирмы BiorbytLTD (Великобритания). Спецификация антител представлена в таблице 2.1.3.1. Результат идентифицировали по коричневому окрашиванию.

Фиксация материала и заливка в парафин проводились по обычной схеме для световой микроскопии. Методику осуществляли следующим образом:

Таблица 2.1.3.1. Спецификация антител.

Наименование антител	Каталожный номер	Вариант окрашивания
АМГ	orb101542	цитоплазматическое, внеклеточное пространство
Cx37	orb6190	мембранное
BMP-15	orb100551	цитоплазматическое, внеклеточное пространство

- 1. Подготовка срезов.* Предметные стекла с поли-L-лизиновым покрытием MZ-J2800 (Menzel, Германия) со срезами размещали в штативе для стекол и помещали в термостат (+56°C) на 30 минут для прогрева.
- 2. Депарафинизация и дегидратирование (60 минут).* Сразу после термостата проводили через батарею со следующей последовательностью: ксилол № 1 - ксилол № 2 - ксилол № 3 (при 37°C); спирт 96% - спирт 96% - спирт 96%. В каждом растворе по 10 минут. При перенесении из одного раствора в другой стекла хорошо стряхивали, чтобы не загрязнять последующие растворы.
- 3. Промывали* в двух сменах дистиллированной воды по 5 минут.
- 4. Блокировка эндогенной пероксидазой.* Наносили по 50 мкл на каждый срез Hydrogen Peroxide Block (Abcam®PLC, Великобритания) и помещали во влажную камеру на 5 минут при комнатной температуре.
- 5. Промывали* в 2 сменах фосфатного буфера по 5 минут.
- 6. Демаскировка в цитратном буфере (0,01 М, рН 6,0) в СВЧ-печи.* Штатив со стеклами укладывали в контейнер с цитратным буфером так, чтобы стекла были полностью покрыты буфером. СВЧ-печь устанавливали на мощность 360 Вт, время 5 мин 30 сек. Затем при открытой дверце, не вынимая из СВЧ-печи, в течение 1 минуты контейнер со стеклами остужали. По истечении указанного времени СВЧ-печь устанавливали в режим «разморозка», время 4 мин 30 сек. Температура буфера по окончании не превышала 95°C.
- 7. Остывание и промывка срезов.* После кипячения в СВЧ-печи контейнер со стеклами доставали, не вынимая из буфера, оставляли остывать до 37-40°C (15-20 мин). Остывшие таким образом стекла промывали в двух сменах ТРИС буфера AP-A2264,0500 (PanReac AppliChem, Германия) по 5 минут.

8. *Инкубация срезов с Protein Block (Abcam®PLC, Великобритания).* На каждый срез наносили по 50 мкл Hydrogen Peroxide Block (Abcam®PLC, Великобритания) и помещали во влажную камеру на 5 минут при комнатной температуре.
9. *Промывали* в 2 сменах ТРИС буфера AP-A2264,0500 (PanReac AppliChem, Германия) по 5 минут.
10. *Инкубация с первыми (специфичными) антителами (АМГ, Сх37, BMP-15; BiorbytLTD, Великобритания).* На влажный срез наносили 50 мкл первых антител и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа.
11. *Промывали* в 2 сменах ТРИС буфера AP-A2264,0500 (PanReac AppliChem, Германия) по 5 минут.
12. *Инкубировали с Biotinylated goat anti-rabbit IgG(H+L) (Abcam®PLC, Великобритания)* 30 минут при 25⁰С.
13. *Промывали* в 2 сменах ТРИС буфера AP-A2264,0500 (PanReac AppliChem, Германия) по 5 минут.
14. *Инкубировали со стрептовидином, конъюгированным с пероксидазой: Streptavidin Peroxidase (Abcam®PLC, Великобритания)* 30 минут при 25⁰С.
15. *Промывали* в 2 сменах ТРИС буфера AP-A2264,0500 (PanReac AppliChem, Германия) по 5 минут.
16. *Выявление пероксидазы диаминобенздином с помощью DAB (Abcam®PLC, Великобритания)* в течение 5 минут. Раствор готовили ex tempore. К 50 мкл DAB Chromogen добавляли 1000 мкл DAB Substrate Buffer.
17. *Промывали* в 2 сменах дистиллированной воды по 5 минут.
18. *Докрашивали* греческим гематоксилином в течение 15-20 секунд.
19. *Промывали* проточной водой.
20. *Дегидратация.* Стёкла со срезами проводили (по 10 минут в каждом) через батарею в последовательности: трижды спирт 96%, затем трижды ксилол. При перенесении из одного раствора в другой стекла хорошо стряхивали, чтобы не загрязнять последующие растворы.
21. *Срезы заключали в канадский бальзам.*

Полуколичественный анализ. Квантитативную оценку проводили согласно R.A. McClelland et al. (1991). Метод включал подсчёт числа ядер (клеток при цитоплазматическом окрашивании) с различной интенсивностью окраски на 500 клеток определённого типа. Степень экспрессии биомаркёров определялась по формуле $H\text{-score} = (1 \times \text{процент слабо позитивных клеток}) + (2 \times \text{процент умеренно позитивных клеток}) + (3 \times \text{процент сильно позитивных клеток})$. По сумме баллов оценивали результат (таблица 2.1.3.2).

Таблица 2.1.3.2. Система оценка экспрессии биомаркёров (H-score)

Сумма баллов	Оценка экспрессии
0-50	0
51-100	1
101-200	2
201 и более	3

2.2. Клиническая часть

2.2.1. Критерии включения / исключения, дизайн, методы исследования и лечения (ретроспективное исследование)

Для характеристики и оценки значимости проблемы возможного повреждения гонад после операций на маточных трубах на первом этапе работы проведено ретроспективное контролируемое сравнительное исследование. Настоящая работа проведена в 2012-2016 гг. в отделении репродуктивных технологий (заведующий – к.м.н., доцент Ж.Ф. Гайфулина) гинекологической клиники (заведующий – к.м.н., доцент В.Н. Ткачёв) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (ректор – д-р мед. наук, профессор О.С. Кобякова).

Критерии включения: 1) установленный диагноз «бесплодие» (согласно определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), причиной которого являются изолированные факторы согласно МКБ-10: N 97.0 (женское бесплодие, связанное с отсутствием овуляции) или N 97.1 (женское бесплодие трубного происхождения); 2) репродуктивный возраст пациенток: 21-45 лет (согласно рекомендациям ВОЗ в основу рамок фертильного возраста положена не естественная способность к зачатию и рождению ребёнка, а оптимальное

состояние репродуктивного здоровья для осуществления генеративной функции [312]).

Критерии исключения: 1) крайние демографические точки фертильного возраста согласно ВОЗ (<21 года, >45 лет); 2) комбинированные и сочетанные формы женского бесплодия; 3) операции на матке и яичниках в анамнезе; 4) операции на маточных трубах давностью более 12 месяцев перед ВРТ, односторонняя СЭ или окклюзия маточной трубы; 5) гиперпролактинемия и гипоталамический синдром; 6) миома матки, требующая оперативного лечения: классы 0-3, 7-8, 4-6 (диаметр >4 см) согласно классификации Международной федерации гинекологов и акушеров (FIGO, 2011) [311]; 7) умеренные и тяжёлые формы генитального эндометриоза согласно классификации Американского общества репродуктивной медицины (ASRM \geq III, 1996); 8) злокачественные заболевания; 9) высокий риск оперативного пособия согласно Американской ассоциации анестезиологов (ASA IV-V).

Группы исследования сформированы в соответствии с целью и задачами исследования на основе анализа первичной документации. Материалом послужила архивная медицинская документация 472 женщин репродуктивного возраста с бесплодием. Объём выборки после сопоставления с критериями включения / исключения) составил 200 пациенток. Основную группу (n=128) составили пациентки с трубным бесплодием (N 97.1 согласно МКБ-10): I группа – билатеральная СЭ в течение 12 месяцев до ВРТ (n=80) и II группа – проксимальная окклюзия обеих маточных труб предшествует ВРТ (n=48). В группу сравнения (III группа) (n=72) вошли пациентки, причиной бесплодия которых являлась хроническая ановуляция (N 97.0 согласно МКБ-10), по классификации ВОЗ – гипоталамо-гипофизарная дисфункция. Исследуемые группы также были разделены на подгруппы согласно возрастному критерию – до и после 35 лет. В основу деления положены популяционные исследования о прогрессивном ухудшении естественной фертильности [459], снижении возможности успешной имплантации оплодотворённой яйцеклетки [437] с указанного возраста. Клинический диагноз «бесплодие» устанавливался в

соответствии с терминологией Международного комитета по исследованию вспомогательных репродуктивных технологий (ICMART) и ВОЗ. Группу контроля составили условно здоровые женщины (n=15), обратившиеся на консультацию по поводу планирования беременности, и не имеющие операций на ОМТ в анамнезе (Z31.6 согласно МКБ-10)². Общий план исследования представлен на рис. 2.2.1.1.

анализ первичной документации (n=472)						
отбор согласно критериям включения / исключения (n=200) + контроль (n=15)						
основная группа				группа сравнения		контроль
I группа (n=80) билатеральная сальпингэктомия		II группа (n=48) окклюзия маточных труб		III группа (n=72) хроническая ановуляция		(n=15) условно здоровые
IA (n=37)	IB (n=43)	IIA (n=29)	IIB (n=19)	IIIA (n=37)	IIIB (n=35)	
21-34 года	35-45 лет	21-34 года	35-45 лет	21-34 года	35-45 лет	21-34 года

Рис. 2.2.1.1. Дизайн исследования

Методы обследования. Всем пациенткам проводилось стандартное клинико-лабораторное обследование в соответствии с приказом Минздрава России №107н от 30.08.2012. Анализ спермы с оценкой её фертильности осуществлялся согласно 5-му руководству ВОЗ по исследованию эякулята человека [21]. Характеристика менструального цикла исследовалась в соответствии с рекомендациями FIGO (2009) [442]. Расчёт индекса массы тела (ИМТ) проводился по формуле вес, кг / рост, м², его значения оценивались согласно рекомендациям ВОЗ (1995).

Гормональные исследования включали оценку базальных концентраций ФСГ, ЛГ, E₂, АМГ, прогестерона, пролактина (ПРЛ), Тес, тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (Т4).

При поступлении в стационар УЗИ выполнялось с помощью аппарата SonoAce R3 (Samsung Medison, Корея). Для оценки состояния матки и её придатков применяли трансвагинальную методику с датчиком 7,5 МГц. V_я

² данные по группе контроля предоставлены ассистентом кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, к.м.н. М.Л. Дмитриевой

вычисляли по формуле для вытянутого эллипсоида – $\pi / 6 \times$ наибольший размер в каждой из трех плоскостей (в упрощённом виде – $0,5233 \times$ наибольший размер в продольной, сагиттальной и поперечной плоскостях) [472]. УЗИ также использовали для определения количества антральных фолликулов (КАФ) диаметром 2-10 мм, мониторинга параметров фолликулогенеза, толщины эндометрия в динамике контролируемых циклов и расчёта момента введения триггера овуляции.

Для выявления «бедного» ответа использовались Болонские критерии, достигнутые на Европейском обществе репродукции человека и эмбриологии (ESHRE, 2011): 1) возраст ≥ 40 лет (или другие известные генетические, приобретённые факторы риска, ассоциированные со снижением ПФ), 2) «бедный» ответ в предыдущем(их) протоколе(ах) стандартной стимуляции (≤ 3 овоцита), 3) сниженный ОР (АМГ $< 0,5-1,1$ нг/мл или КАФ $< 5-7$) [162]. Наличие ≥ 2 факторов или ≥ 2 эпизодов гипоэргического ответа на максимальную стимуляцию ранее прогнозировало «бедный» ответ.

Для «проспективной» оценки исходного состояния пациентов на основе анализа данных литературы дополнительно введена категория «потенциально бедный ответ». Категория включала 3 основные группы предикторов: 1) анамнестические: возраст ≥ 35 лет, один эпизод «бедного» ответа при обычной стимуляции ранее, укорочение менструального цикла; 2) гормональные: ФСГ ≥ 10 мЕд/мл, АМГ ≤ 1 нг/мл; 3) ультразвуковые: Σ КАФ ≤ 10 , $\Sigma V_{я} \leq 8$ см³ [1]. Наличие хотя бы одного предиктора обозначали «потенциально бедным ответом».

Методы лечения. Процедура ЭКО (\pm ИКСИ) выполнялась по общепринятой методике [16]. Традиционно для стимуляции и контроля за ростом фолликулов применялись 3 группы гормональных препаратов, действие которых направлено на временное подавление секреции ФСГ и ЛГ гипофизом (десенситизацию

3 подраздел составлен с учётом замечаний зав. отделением репродуктивных технологий (ОРТ) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, доц., к.м.н. Гайфулиной Ж.Ф., эмбриолога ОРТ ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, к.м.н. Марошкиной А.Н.

рецепторов), собственно стимуляцию роста и развития фолликулов и окончательное созревание яйцеклеток [341].

Индукцированный цикл. Индукция суперовуляции проводилась по протоколу с антагонистами гонадотропин-рилизинг гормона (антаГнРГ) [213]: цетрореликс (цетротид, Merck Serono) в дозе 0,25 мг / сутки. Для стимуляции использовали рекомбинантные гонадотропины, содержащие только фоллитропин альфа (гонал Ф, Merck Serono) или дополнительно лутропин альфа (перговерис, Merck Serono), а также менотропины (меногон, менопур, Ferring Pharmaceuticals) [341]. При УЗ-контроле индуцированного фолликулогенеза в активной фазе адекватным считали рост диаметра лидирующего фолликула на 1-2 мм / сутки.

Введение триггера производилось при диаметре лидирующего фолликула 16-18 мм (риск преждевременной лютеинизации фолликулов 15-30%) [12]. В качестве триггера овуляции использовались рекомбинантный хориогонадотропин (ХГ) альфа в дозе 250 мкг п/к (овитрель, Merck Serono) или агонист ГнРГ (аГнРГ) трипторелин в дозе 0,2 мг п/к (диферелин, Ipsen) [210].

Аспирация овоцитов проводилась через 36 часов после введения триггера овуляции [452]. Забор овоцитов осуществлялся под внутривенной общей анестезией пропофолом (диприван, Zeneca) пункционными иглами с диаметром просвета 17G (бренд Wallace, Smiths Medical, США) и 19G (Vitrolife, Швеция) с использованием аспирационной помпы Single Vac Pioneer Pro-Pump (LifeGlobal Group LLC, США) под УЗ-контролем на аппарате Flex Focus 400 (BK Ultrasound, Дания).

Эмбриологические методы. Преинкубацию, оплодотворение овоцитов, культивирование эмбрионов проводилось с использованием сред Sage Media: fertilization medium, cleavage medium, blastocyst medium (Origio, Дания) в CO₂-инкубаторах Sanyo (Япония) и Binder (Германия) в течение 3-6 суток с учётом рекомендаций стамбульского консенсуса общества учёных / эмбриологов в репродуктивной медицине Alpha и SIGE ESHRE [70, 74]. Для криоконсервации (витрификации) использовались среды фирмы Kitazato (Япония).

Эмбриоперенос осуществлялся с использованием мягких катетеров Wallace 1816N и со стилетом Wallace Sure-Pro PPS623 (Smiths Medical, США).

По морфологическим признакам полученные овоциты разделялись на зрелые (метафаза II – МII), незрелые (метафаза I – MI, профаза I – Gv) и дегенеративные (Atr) [70]. Применялись обе методики оплодотворения: ЭКО и ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов). В первые сутки культивирования оценивалось наличие признаков оплодотворения и качество зигот. Оплодотворение считалось нормальным при наличии двух пронуклеусов (2pn) и 2 полярных тел (2pb), аномальным – 1pn и ≥ 3 pn, отсутствующим – 0pn.

Оценка дробления на 3-е сутки проводилась в соответствии с классификациями A. van Steiterghem et al. (1995), T. Hardarson (2001) [70, 74]. Учитывались количество, форма и размеры бластомеров, степень фрагментации (объём эмбриона, занимаемый безъядерными фрагментами цитоплазмы). Эмбрионы отличного качества (тип А) не имели ануклеарных фрагментов, хорошего качества (тип В) содержали до 20% безъядерных фрагментов, удовлетворительного качества (тип С) – от 21 до 50%, неудовлетворительного качества (тип D) – более 50% ануклеарных фрагментов. Эмбрионы «top»-качества имели 6-8 бластомеров и маркировку «А» (6А, 7А, 8А) [182].

Оценка эмбрионов на 5-е сутки проводилась согласно классификации D.K. Gardner и W.B. Schoolcraft (1999), учитывала степень зрелости внутриклеточной массы (6 степеней) и трофэктодермального слоя (3 степени) бластоцисты [70, 74]. Эмбрионы со степенью расширения 2-5, маркировками «А» для внутриклеточной массы и «А» или «В» для трофэктодермы обозначались бластоцистами «top»-качества – 2-5AA(B) [254].

Посттрансферная поддержка и диагностика беременности. Поддержка лютеиновой фазы цикла проводилась прогестерон-содержащими препаратами в дозе 90 мг / сутки интравгинально (крайнон, Merck Serono) [287, 298]. Дополнительно могли назначаться 1% масляный раствор прогестерона (10 мг / сутки в/м) и натуральные эстрогены в виде эстрадиола гемигидрата в дозе 2-4 мг / сутки трансдермально (дивигель, Orion Pharma) [163]. Диагностика

биохимической (определение β -субъединицы ХГ) и клинической (УЗИ) беременности проводилась на 12-14, 26-30 дни, соответственно после эмбриопереноса. Прогрессирующей беременностью считалось наличие эмбриона с сердцебиением.

2.2.2. Критерии включения / исключения, дизайн, методы исследования и лечения (проспективное исследование)⁴

Для характеристики и оценки значимости проблемы возможного повреждения гонад после радикальных операций на матке и маточных трубах на втором этапе работы проведено проспективное исследование. Работа проведена в 2012-2016 гг. в гинекологической клинике (заведующий – к.м.н., доцент В.Н. Ткачёв) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (ректор – д-р мед. наук, профессор О.С. Кобякова) и отделении плановой хирургии ООО «Частная клиника № 1» г. Томска (главный врач – к.м.н. М.А. Дума).

Критерии включения: 1) информированное письменное согласие на данное исследование; 2) возрастной диапазон наступления климактерия согласно докладу научной группы ВОЗ по исследованию менопаузы в 1990-х гг. (1996) – 40-60 лет [178, 222]; 3) наиболее частые показания для ГЭ [297, 313]: миома матки (D 25, МКБ-10) и АМК, обусловленные гиперпластическими процессами эндометрия (N 85.0 и N 85.1, МКБ-10); 4) эндоскопический оперативный доступ.

Критерии исключения: 1) отказ от участия в исследовании на любом этапе; 2) ПОН (МКБ-10: E 28.3 – первичная яичниковая недостаточность, N 83.3 – приобретённая атрофия яичников и маточной трубы, E 28.8 – другие виды яичниковой дисфункции); 3) нарушения функции яичников после медицинских процедур (E 89.4, МКБ-10); 4) операции на придатках матки в анамнезе; 5) объём оперативного лечения, превышающий субтотальную ГЭ с СЭ (тотальная ГЭ, ГЭ с уни- и билатеральной овариотомией), и конверсия на лапаротомию; 6) показания к уни- и билатеральной СЭ, возникшие интраоперационно; 7) гипо-

⁴ Проспективное исследование выполнено совместно с аспирантом кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России А.С. Фатеевой

и гипертиреоз, гиперпролактинемия; 8) ранее проведённые альтернативные хирургические методы лечения миомы матки и гиперплазии эндометрия: эмболизация маточных артерий, абляция эндометрия; 9) предшествующее (менее 2-х лет) применение аГнРГ до оперативного вмешательства; 10) аденомиоз, ретроцервикальный эндометриоз тяжёлые формы наружного генитального эндометриоза ($ASRM > III$); 11) злокачественные заболевания; 12) высокий риск оперативного пособия ($ASA IV-V$).

Дизайн исследования (рис. 2.2.2.1): одиночное рандомизированное в параллельных группах. Первую (I) группу составили пациентки, которым произведена субтотальная ГЭ с двусторонним удалением маточных труб без яичников ($n=28$). Во второй (II) группе субтотальная ГЭ проводилась без придатков ($n=22$).

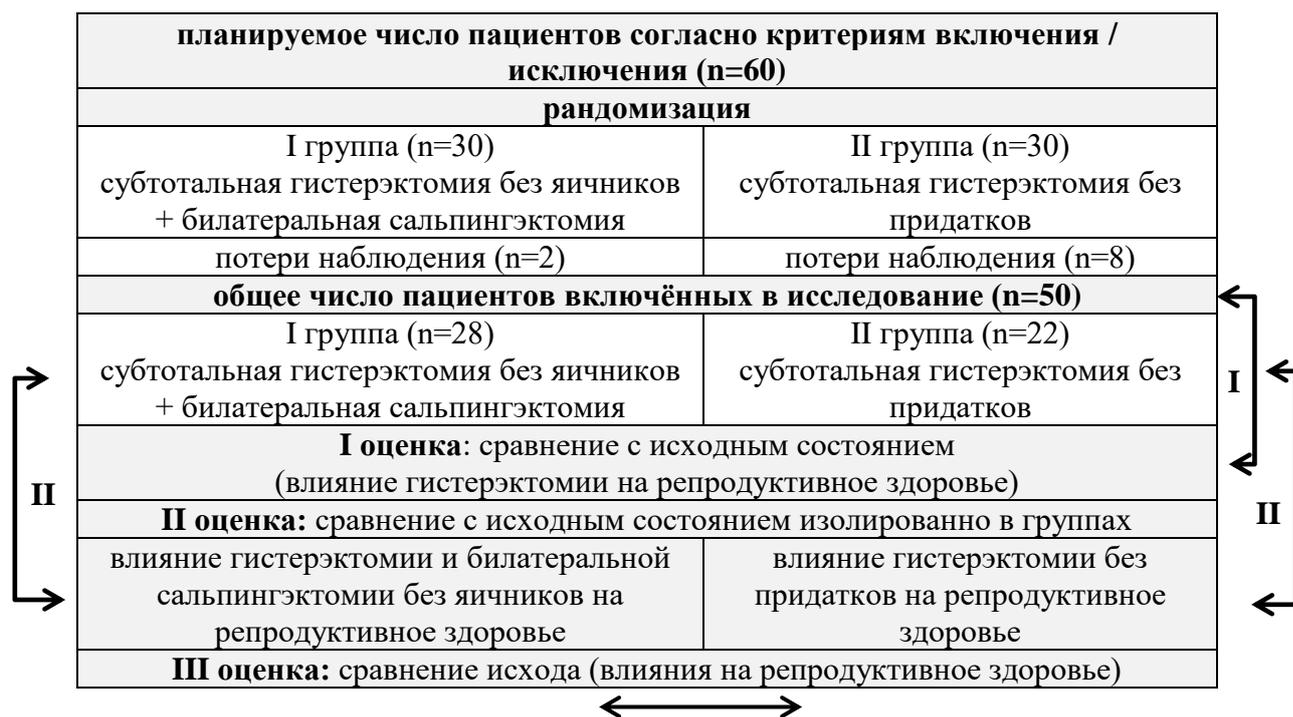


Рис. 2.2.2.1. Дизайн исследования III

Размер выборки. При планировании исследования априорный расчёт необходимого размера выборки проводился на основе единственного показателя функционального ОР – ФСГ, а именно необходимого достижения разницы гонадотропина до и после оперативного лечения (в том числе в каждой группе для выявления эффекта СЭ). Для расчёта использованы стандартные параметры:

5% уровень значимости и 80% мощность, средние значения и среднеквадратичные ошибки значений концентрации ФСГ до оперативного лечения и заданный предел – после, определён вероятный метод статистической обработки (непараметрический тест для двух зависимых выборок).

Вводными параметрами оценки (значения ФСГ до операции) являлись результаты исследовательской программы, проведённой Национальным центром статистики здравоохранения в 1999-2000 гг. в США, согласно которым в стадии менопаузального перехода средние значения ФСГ составляют 21,9 ($\pm 3,7$) мМЕ/мл, постменопаузе – 45,7 ($\pm 4,3$) мМЕ/мл [283]. То есть для подтверждения гипотезы о том, что оперативное лечение ускорит менопаузальный переход необходимо увеличение ФСГ на 23,8 мМЕ/мл. При такой разнице для достижения искомой мощности и уровня значимости в группах достаточно иметь по 6 человек. Однако, эффекты оперативного лечения могут быть не столь явными, и подобной разницы концентраций ФСГ может быть не получено. Нами выбрана величина значимого эффекта в 10 мМЕ/мл. Таким образом, для выявления различий концентрации ФСГ в 10 мМЕ/мл до и после оперативного лечения на 5% уровне значимости с 80% мощностью, принимая стандартное отклонение равным 12 мМЕ/мл и исходную величину ФСГ – 21,9 мМЕ/мл, в каждой группе потребуется 25 человек. Это число было увеличено до 30 (общее количество наблюдений 60), для компенсации потерь при наблюдении, составляющих обычно около 20% обследуемых.

Рандомизация. Независимая последовательная рандомизация пациентов по группам лечений проводилась с помощью он-лайн генератора случайных чисел – «<https://www.random.org>», где случайность обусловлена атмосферным шумом, который для целей исследования лучше алгоритмов псевдослучайных чисел, обычно использующихся в компьютерных программах.

Методы обследования. Клиническое обследование проводилось в соответствии с приказом Минздрава России №572н от 01.11.2012 г. Традиционные субъективные характеристики включали оценку жалоб, времени их появления по отношению к планируемому оперативному вмешательству,

данные анамнеза (болезни и жизни), при сборе которых особое внимание уделяли репродуктивным сведениям (количеству и исходам беременностей), характеристикам менструального цикла, в соответствии с рекомендациями FIGO (2009) [442].

Объективные данные включали общий осмотр пациенток, физикальное обследование по органам и системам, оценку особенностей телосложения, наличия признаков эндокринно-обменных расстройств, расчёт ИМТ, исследование гинекологического статуса (осмотр наружных половых органов, влагалища и шейки матки в зеркалах бимануальное исследование).

Всем пациенткам проводился комплекс стандартных лабораторных и инструментальных исследований: общеклинические анализы крови и мочи, биохимический и серологический анализы крови, гемостазиограмма, микроскопическое и цитологическое исследование вагинальных мазков, электрокардиографию и флюорографию органов грудной клетки.

Гормональное исследование проведено методом ИФА (лаборатория консультативно-диагностической поликлиники ООО «ДиаТомПлюс», г. Томск) на 2-5-й день менструального цикла и через 3 месяца после операции: ФСГ, ЛГ, E₂, ингибин В, ПРЛ и ТТГ.

При поступлении в стационар УЗИ выполнялось с помощью аппарата SDU-500С (Shimadzu, Япония) линейным (3,5 МГц) и трансвагинальным (5,0 МГц) датчиками до и после оперативного вмешательства. Ультразвуковые параметры оценки ОР включали: V_я, КАФ (см. раздел 2.2.1).

Для внесения предусмотренной протоколом исследования информации на каждую пациентку заведена специально разработанная индивидуальная регистрационная карта испытуемого. Дополнительно к медико-экономическому стандарту обследования проведена оценка климактерического синдрома по менопаузальному индексу Н. Kupperman (1959), модифицированного Е.В. Уваровой (1983) (ММИ) [24]. При оценке степени тяжести климактерического синдрома по ММИ учитывались нейровегетативные метаболические и психоэмоциональные симптомы (приложение 1). Каждый

симптом оценивался в баллах, подсчёт проводился отдельно по трём группам нарушений. Общая сумма баллов формировала степень тяжести.

Методы лечения. Тактика ведения пациенток включала в себя наблюдение и мониторинг, медикаментозную терапию, различные методы хирургического воздействия (в соответствии с дизайном исследования) и использование мини-инвазивных подходов.

Показания к операции. Окончательные показания к оперативному лечению сформулированы в соответствии с клиническими рекомендациями Минздрава России № 15-4/10/2-5805 «Миома матки: диагностика, лечение и реабилитация» (2015): обильные менструальные кровотечения, приводящие к возникновению анемии; хроническая тазовая боль, значительно снижающая качество жизни; нарушение нормального функционирования соседних с маткой внутренних органов (прямая кишка, мочевого пузыря, мочеточники); большой размер опухоли (более 12 недель беременной матки); быстрый рост опухоли (увеличение более чем на 4 недель беременности в течение 1 года); подслизистое расположение узла миомы.

Объём хирургического лечения и оперативный доступ. В работе использовался только эндоскопический доступ. Объём операции ограничивался субтотальной ГЭ, проводимой по стандартной методике. В группе пациенток с оппортунистической СЭ удаление маточных труб проводилось механически ножницами после предварительной электрокоагуляции с соблюдением принципа функциональной хирургии. Техника сводилась к максимально близкому отсечению маточной трубы от мезосальпинкса для предотвращения травматизации сосудов, питающих яичник. Женщинам, включенным в группу ГЭ без придатков, маточная труба пересекалась в проксимальном отделе истмической части после предварительной электрокоагуляции. С целью гемостаза применялась только биполярная коагуляция мощностью 40-50 Вт. Операции выполнялись под эндотрахеальным наркозом эндоскопическими бригадами врачей гинекологической клиники ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и отделения плановой хирургии ООО «Частная клиника № 1» г. Томска

с использованием стандартного лапароскопического инструментария фирмы «Karl Storz» (Германия). В послеоперационном периоде пациенткам назначались антибиотики широкого спектра действия и низкомолекулярные гепарины с профилактической целью, нестероидные противовоспалительные препараты, инфузионная терапия. Выписка из стационара осуществлялась на 2-4 сутки.

Результаты лечения оценивались через 3 месяца по комплексу клинических и лабораторно-инструментальных показателей: наличию или отсутствию жалоб, оценке климактерического синдрома по ММИ, данным гинекологического статуса, маркерам функционального ОР.

2.3. Статистические методы

Анализ результатов проводили с использованием статистического пакета IBM SPSS Statistics v. 23.0 (IBM, США). Расчёт необходимого размера выборки / мощности осуществлялся при помощи программы G*Power v.3.1 (университет Дюссельдорфа им. Генриха Гейне, Германия). Расчёт доверительных интервалов частот и долей номинальных признаков производился с помощью онлайн-калькуляторов: на портале Wassar Stats: Web Site for Statistical Computation (<http://vassarstats.net/prop1.html>) и разработанного J. Sauro (<http://www.measuringusability.com/wald.htm>).

Алгоритм выбора статистического критерия проводился в зависимости от типа имеющихся данных и их распределения. Для количественных данных проводилась «проверка распределения на нормальность» графически (Q-Q plots), критерием S.S. Shapiro & M. Wilk (1965) при наблюдениях < 30-50 и тестом Kolmogorov-Smirnov с поправкой Н. Lilliefors (1967) при больших размерах выборки. При уровне значимости $(p) > 0,05$ распределение считали нормальным, данные описывались с помощью средней арифметической, ошибки средней и стандартного отклонения ($M \pm SE \pm SD$). Для асимметричных распределений использовали медиану (Me) и 25-75-й процентиля ($Q1-Q3$) в качестве мер рассеяния. Для проверки равенства дисперсий использовался критерий Н. Levene (1960), так как его применение менее чувствительно к отклонениям от

нормального закона распределения (что в работе встречалось чаще). При достижении $p > 0,05$ дисперсии считали гомогенными (гомоскедастичными).

Уровни «р» для каждого из проведённых методов обозначали согласно рекомендациям Н.Н. Хромова-Борисова (2014). Значения, имеющие вероятность ошибки $p > 0,05$, считали незначимыми, $p [0,05; 0,01]$ – неопределенно значимыми, $p [0,01; 0,001]$ – значимыми, $p < 0,001$ – высоко значимыми.

Анализ количественных данных при двух независимых выборках проводился t-критерием Стьюдента (W.S. Gosset, 1908). При несоблюдении условий применимости (неравные дисперсии и ненормальное распределение) использовался U тест Н.В. Mann & D.R. Whitney (1947), или данные трансформировались в зависимости от варианта асимметрии. Для двух зависимых выборок использовался парный критерий Стьюдента, а при несоблюдении условий применения, в том числе для порядковых шкал – знаково-ранговый критерий W F. Wilcoxon (1945). Для выборок с порядковыми шкалами дополнительно исследованы критерий знаков и тест Q. McNemar (1947) при дихотомических значениях признака.

При более чем двух независимых выборок использовался однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Для решения аналитической проблемы W.U. Behrens (1929) & R. Fisher (1935) – неизвестные дисперсии в двух нормальных распределениях, использовались робастные критерии равенства средних M.B. Brown & A.B. Forsythe (1974) и B.L. Welch (1951).

В случае значимого результата ANOVA для интерпретации различий между конкретными группами проводили специализированные апостериорные сравнения (post hoc). При выборе теста руководствовались правилами. Консервативные тесты приводили к уменьшению статистической мощности критериев и повышению вероятности ошибки 2 типа, то есть вероятности принятия решения об отсутствии различий там, где они на самом деле есть. Либеральные критерии, в свою очередь, завышали вероятность ошибки 1 типа, то есть вероятность принятия решения о наличии различий там, где их нет. Были приняты во внимание критерии, контролирующие ошибки 1 и 2 типов, а также

их работа при несоблюдении необходимых условий применения дисперсионного анализа. Тестами выбора при гомогенных дисперсиях служили: К.Р. Gabriel (1969), допускающий небольшой разброс размеров выборок, и Q-критерий Ryan, Einot, Gabriel, Welsh (REGWQ), наилучшее сочетание мощности и контроля за ошибкой 1 типа при равном размере большого количества выборок); при гетероскедастичности дисперсий – А.С. Tamhane (1987) (консервативный тест для разных по размеру групп) и Р.А. Games & J.F. Howell (1976) (либеральный при малых группах и неравном их размере). При сравнении с контролем использовали двусторонний тест С.В. Dunnett (1955). Иногда для сравнения использовали дополнительные post hoc сравнения: R.A. Fisher's (1935) LSD (least significant difference), J. Tukey's (1949) HSD (honest significant difference), С.Е. Bonferroni (1936), Z. Sidak (1967), Y. Hochberg (1988), Н. Scheffe (1959).

Для планового сравнения нескольких выборок, расположенных в логической последовательности проводился априорный анализ контрастов. Учитывая небольшой набор данных относительно стабильной величины использовалась линейная комбинация трендов (коэффициентов), каждый из которых соответствовал отдельной категории независимой переменной.

При несоблюдении «классических» для параметрических тестов условий аналогом ANOVA являлся H-тест W. Kruskal & W.A. Wallis (1952), post hoc тесты проводились критерием Манна-Уитни. При необходимости выявления не только различий в расположении распределений выборок, но и в их форме исследован медианный критерий. При наличии естественной априорной упорядоченности совокупностей применялся критерий A.R. Jonckheere (1954) & T.J. Terpstra (1952).

Для решения проблемы множественных сравнений критический уровень значимости устанавливали в соответствии с формулой « $p=1-0,95^{1/n}$ », где n – количество сравнений (таблица 2.3.1).

Учитывая, что нормальная аппроксимация биномиального распределения актуальна лишь при наличии больших выборок и при частотах, близких к 0,5 для анализа качественных данных использовался хи-квадрат (χ^2) К. Pearson (1900) и

анализ таблиц сопряжённости. При малых выборках, а также доле ячеек (с ожидаемыми значениями менее 5) превышающей 20% применялся χ^2 с поправкой на правдоподобие ($\Lambda \chi^2$). При ожидаемом значении менее 5 в любой ячейке четырёхпольной таблицы применялся точный тест R. Fisher (1922). При данных, измеряемых на порядковой (ранговой) шкале, гипотеза о наличии статистической взаимосвязи проверялась критерием χ^2 для линейного тренда ($\chi^2_{\text{для тренда}}$), а величина эффекта и направленность одной из переменных исследовалась симметричными – γ L.A. Goodman & W.H. Kruskal (1954-1972), tau-c (τ -с) M.G. Kendall & A. Stuart (1973) и асимметричными – d R.H. Somers (1962) критериями. Для оценки меры точности номинальных переменных использовали 95% доверительный интервал (ДИ). При $n > 100$ использовался «общепринятый» метод A. Wald (1939), при $n < 100$ применялся метод E.B. Wilson (1927). Последний также использовался при $n > 100$ и частотах признака $>90\%$ и $<10\%$. При частотах признака близких к 50% использовали точечный расчёт – оценка максимального правдоподобия или доля признака в группе (MLE): p / n .

Таблица 2.3.1. Необходимый p в зависимости от количества сравниваемых групп (Гржибовский А.М., 2008)

Количество сравниваемых групп	2	3	4	5	6
Количество попарных сравнений	1	3	6	10	15
Вероятность ошибки 1 типа, %	5	14	26	40	54
Критический уровень значимости	0,05	0,0170	0,0085	0,0051	0,0033
Количество сравнений с контрольной группой	1	2	3	4	5
Вероятность ошибки 1 типа, %	5	10	14	19	
Критический уровень значимости	0,05	0,0253	0,0170	0,0127	0,01

Для применения результатов проведённого исследования проводили количественную оценку вероятности исхода, связанную с наличием фактора риска – относительный риск (Relative Risk, RR), отношение шансов (Odds Ratio, OR), дополнительно – NNT (Number Needed to Treat), чувствительность (Se, sensitivity) и специфичность (Sp, specificity) с использованием таблицы сопряжённости по формулам: $RR = A*(C+D)/C*(A+B)$, $OR = A*D/B*C$,

$$NNT = \frac{1}{\frac{C}{C+D} - \frac{A}{A+B}}; \quad Se = \frac{A}{A+C} * 100\%; \quad Sp = \frac{D}{B+D} * 100\%$$

	исход есть (1)	исхода нет (2)
фактор риска есть (1)	A	B
фактора риска нет (2)	C	D

Корреляционный анализ. Для количественного определения силы и направления взаимосвязи между переменными использовался коэффициент корреляции r_p К. Pearson (1895), при несоблюдении условий применения которого – С. Spearman (1904) и τ_b М. Kendall (1938). Для оценки силы связи применялась шкала R.E. Chaddock (1925): слабая – $r \leq \pm 0,29$; умеренная – $\pm 0,30 \leq r \leq \pm 0,49$; заметная – $\pm 0,50 \leq r \leq \pm 0,69$; высокая – $\pm 0,70 \leq r \leq \pm 0,89$; весьма высокая (сильная) – $r \geq \pm 0,90$. Степень тесноты взаимосвязи определялась коэффициентом детерминации (r^2).

Регрессионный анализ. Для определения вида математической функции в причинно-следственной зависимости между переменными использовалась бинарная логистическая регрессия. Прогнозирование событий рассчитывалось по формуле: $p = 1/(1 + e^{-z})$, где e – экспонента, $z = b_1 * x_1 + b_2 * x_2 + \dots + b_n * x_n + a$; $x_1 - x_n$ – значения переменных, $b_1 - b_n$ – коэффициенты модели регрессии, a – константа. Порог классификация задан 0,5: при значении $p < 0,5$ предполагалось, что событие не наступит, при $p > 0,5$ – его наступление. Метод использования переменных – «вложение», в расчёт вовлекались все переменные объявленные ковариатами. Оценку согласия модели проводили тестом D.W. Hosmer & S. Lemeshow (2013), качество приближения – функцией подобия, мерой которой служило отрицательное удвоенное значение логарифма функции (-2LL). Доля вариации, объясняемой моделью, выражалась r^2 N.J.D. Nagelkerke (1991). Для оценки статистической значимости независимой переменной использовался тест A. Wald (1943), точности модели – чувствительность и специфичность.

Дискриминантный анализ использовался для построения диагностических решающих правил и последующей классификация групп по новым наблюдениям использовался дискриминантный анализ. Условия применимости: нормальность

распределения некатегориальных признаков, однородность матриц дисперсий / ковариаций для переменных в модели (М критерий G.E.P. Vox, 1949), отсутствие корреляции между переменными (мультиколлинеарность) с помощью корреляционной матрицы (фактор инфляции дисперсии, VIF), хорошая обусловленность матриц дисперсий / ковариаций для переменных в модели (значение толерантности для каждой переменной, $1-r^2$). При значениях толерантности $<0,2$ и $VIF > 4.0$ в связи с мультиколлинеарностью независимая переменная из анализа удалялась. Алгоритм анализа включал 3 этапа.

I этап (обучающая информация). Пошаговый выбор (используя λ S.S. Wilk, 1938) набора переменных, предпочтительным образом разделяющий обучающие выборки. Априорная вероятность наступления события вычислялась по размерам групп, некоторые переменные включались принудительно.

II этап (дискриминантное уравнение). Расчёт производился по формуле: $d = b_1 * x_1 + b_2 * x_2 + \dots + b_n x_n + a$, где x_1 и x_n – значения переменных, соответствующих рассматриваемым случаям, константы b_1 - b_n и a – коэффициенты, которые предстояло оценить с помощью дискриминантного анализа. Решающее правило для дискриминантной функции сформулировано следующим образом: если для данного объекта x выполнялось неравенство $d(x) > 0$, он относился к первому классу; если $d(x) < 0$ – ко второму классу. По коэффициенту канонической корреляции и собственным значениям (отношение суммы квадратов между группами к сумме квадратов внутри групп) судили об удачности деления на классы. Значимость различий средних значений дискриминантной функции оценивалась по λ Вилкса. Анализ коэффициентов канонической дискриминантной функции показывал какие предикторы вносят больший относительный собственный вклад в дискриминацию.

III этап (классификация). Для классификации объектов наименьшее значение канонических функций для каждого объекта сравнивали со средними значениями расстояния до центроидов каждой группы (используя расстояние P.C. Mahalanobis, 1936). Для повышения точности дискриминантной функции необходимо включать как можно больше наблюдений (желательно всех), однако

это исключало возможность априорной классификации (кросс-проверки результатов анализа на новых объектах) оставшихся наблюдений. Учитывая небольшую выборку для которой проводился расчёт, компромиссом являлось разделение исследуемой совокупности на: ~80% наблюдений использовалось для построения дискриминантной функции и ~20% наблюдений для её кросс-проверки на объектах, не включённых в дискриминантное уравнение.

При представлении результатов инструментом оценки качества классификации различных дискриминантных правил являлся метод, основанный на анализе операционной характеристической кривой ROC (Receiver Operating Characteristic). ROC-анализ предусматривал сравнение чувствительности и специфичности. Интегральной характеристикой оценки качества являлась площадь под ROC-кривой – AUC (Area Under Curve): чем больше показатель, тем лучшей прогностической силой обладала модель. Качество модели характеризовалось как: отличное (AUC=0,9-1,0), очень хорошее (AUC=0,8-0,9), хорошее (AUC=0,7-0,8), среднее (AUC=0,6-0,7), неудовлетворительное (AUC=0,5-0,6).

Г Л А В А 3

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1. Результаты аутопсии

3.1.1. Общая характеристика подопытных животных, состояние органов малого таза ложнооперированных крыс

На протяжении эксперимента отслеживали внешний вид животных, их общее состояние, поведение, массу тела, двигательную активность и пищевую возбудимость, контролировали состояние послеоперационных швов. При аутопсии визуально оценивали состояние органов брюшной полости: наличие и характер выпота, состояние брюшины, измеряли размеры, объём яичников, макроскопический характер структуры коры яичника, наличие фолликулов, кист, кровоизлияний. Яичники ложнооперированных животных имели вид небольших гроздевидных образований желто-серого цвета размером 5-6 мм, характеризовались наличием умеренного количества фолликулов, (рис. 3.1.1.1 а, б). Яйцеводы представляли собой тонкие трубочки, открывающиеся в полость тела воронками, располагающимися близ яичника, а другими концами – в матку (рис. 3.1.1.1 а). Матка двураздельная, почти до самого влагалища представлена двумя частями – маточными рогами. Непарная часть матки (шейка) у входа во влагалище сужена, снабжена сильным сфинктером, полностью закрывающим отверстие матки (рис. 3.1.1.1 а).

3.1.2. Характеристика подопытных животных, состояние органов малого таза, объём яичников, кольпоцитологические изменения

Хирургические воздействия у подопытных крыс сопровождались низкой смертностью. Только одно животное умерло интраоперационно от механической асфиксии, вызванной западением языка. Общее состояние, поведение, двигательная активность животных и течение патологического процесса не зависело от объёма операции (удаление маточных рогов, яйцеводов или их сочетания), а определялось проведением собственно вмешательства

(операционным доступом – лапаротомией). Общее состояние и внешний вид животных, которым вводили ультрамикронизированный ДГЭА, не отличались от таковых в основной группе (только оперативное вмешательство).

На 1-2-е сутки послеоперационного периода в целом животные характеризовались вялым поведением, адинамичностью, шерсть была взъерошена, пищевая возбудимость оказывалась сниженной. У некоторых крыс отмечалась вздутие живота, втянутость боков (симптом раздражения брюшины). В области операционной раны имели место отёк и инфильтрация, которые сохранялись до 5-7-х суток. С 3-4-х суток аппетит оказывался повышенным. К 10-м суткам все прооперированные животные были в хорошем состоянии: шерсть была сухая, белая, несвалявшаяся, аппетит хороший, потребление воды и корма в достаточном количестве. Масса тела и объём яичников некоторых групп подопытных животных представлены в таблице 3.1.2.1.

Н-тестом Краскела-Уоллиса значимых различий в массе тела контрольных и подопытных крыс на 2, 10, 30 и 60-е сутки опыта не установлено ($H_{(3)}=6,2$, $p=0,102$; $H_{(3)}=7,6$, $p=0,055$; $H_{(3)}=7,0$, $p=0,073$; $H_{(3)}=0$, $p=0,998$, соответственно), также как и различий в массе тела между животными основной и группы сравнения на 30-е ($H_{(3)}=0,5$, $p=0,911$) и 60-е сутки ($H_{(3)}=0,3$, $p=0,952$). Полученные данные демонстрируют динамику увеличения веса с возрастом (максимальная длительность эксперимента составила 60 суток), что является нормой для самок. На 2-е сутки послеоперационного периода масса тела животных снижалась на 4% от 208 г до 200 г ($T=0$, $Z=-3,7$, $p<0,001$), к 10-м суткам восстанавливалась до предоперационных значений – 210 г ($T=55$, $Z=-1,3$, $p=0,182$), а к 60-м суткам значимо увеличивалась до 265 г ($T=171$, $Z=-3,7$, $p<0,001$).

Динамики изменения $V_{я}$ тестом Краскела-Уоллиса в течение 60-и суток опыта после удаления маточных рогов ($H_{(3)}=0,7$, $p=0,866$), яйцеводов ($H_{(3)}=1,0$, $p=0,802$), сочетанного объёма операции ($H_{(4)}=5,0$, $p=0,287$), а также после применения ДГЭА ($H_{(2)}=1,5$, $p=0,474$) не выявлено. Аналогичные результаты получены при сравнении с контролем для каждой из групп ($H_{(4)}=2,4$, $p=0,670$; $H_{(4)}=2,5$, $p=0,638$; $H_{(5)}=9,5$, $p=0,090$; $H_{(3)}=1,7$, $p=0,638$, соответственно). Однако

сравнение $V_{я}$ на 40-е сутки у животных трёх групп ($H_{(2)}=8,4$, $p=0,015$) оказывалось существенным. Post hoc Манна-Уитни выявил значимое снижение $V_{я}$ только в группе крыс с удаленными маточными рогами и яйцеводами ($Me=12,6$ мм³) по сравнению с контролем ($Me=24,3$ мм³, $U=58,0$, $Z=-2,9$, $p=0,003$). $V_{я}$ в группе животных, получавших ДГЭА ($Me=19,9$ мм³) в то же время оказывался сопоставимым с таковым у ложнооперированных крыс ($Me=24,3$ мм³, $U=111,5$, $Z=-1,1$, $p=0,280$), что могло предполагать положительный эффект прогормона. Однако, значимой разницы при сравнении животных после удаления маточных рогов и яйцеводов с таковым при использовании ДГЭА не получено ($U=47,6$, $Z=-1,4$, $p=0,160$). Кроме того, уже на 60-е сутки значимых различий при сравнении животных различных групп не выявлено ($H_{(4)}=1,7$, $p=0,783$). Сравнения на 2-е ($H_{(3)}=0,6$, $p=0,895$), 10-е ($H_{(3)}=3,0$, $p=0,388$) и 30-е сутки ($H_{(4)}=4,3$, $p=0,366$) также оказывались незначимыми.

Таблица 3.1.2.1. Масса тела и объём яичников некоторых групп подопытных животных (Me; Q1-Q3)¹

	удаление маточных рогов и яйцеводов ЭХ (n=30)	удаление маточных рогов ЭХ (n=24)	удаление яйцеводов ЭХ (n=24)	удаление маточных рогов и яйцеводов ЭХ + ДГЭА (n=18)	контроль ² (n=12)
масса тела крыс, грамм					
до операции ³	209; 204-218	209; 201-215	209; 203-215	210; 205-216	210; 207-215
2 сутки	195; 191-209	201; 193-205	202; 198-2-8		214; 206-
10 сутки	208; 200-212	208; 203-215	210; 203-217		228; 228-
30 сутки	225; 217-236	228; 217-238	230; 224-236	229; 221-237	242; 239-
40 сутки	236; 229-247			237; 230-243	
60 сутки	265; 253-271	265; 256-270	263; 251-275	267; 255-276	267; 256-
объём яичников, мм³					
2 сутки	23; 13-31	21; 19-34	22; 17-31		21; 13-31
10 сутки	20; 13-30	20; 13-24	20; 17-23		31; 24-
30 сутки	19; 15-23	19; 13-31	17; 13-30	24; 20-31	25; 14-
40 сутки	13; 10-20			20; 13-30	
60 сутки	20; 14-30	19; 19-25	19; 17-30	22; 17-33	25; 25-

Примечание: ¹ Me – медиана, Q1 и Q3 – 25 и 75 процентиля; ² для контроля сутки опыта означают день забора материала от начала эксперимента; ³ в графе «до операции» указаны Me и Q1-Q3 для всех животных каждой группы (в тексте представлены сравнения до и после операции по точкам эксперимента для всех групп).

На 2-10-е сутки при аутопсии обнаруживалось небольшое количество серозного, иногда серозно-геморрагического экссудата. Сосуды брюшины оказывались полнокровными. В группе животных, которым производилась ЭХ коагуляция яичников, отмечались утолщение и отечность рогов матки, полнокровие их сосудов, яйцеводы были гиперемизированными. Яичники характеризовались мелкокистозным рисунком коры. Фолликулы были представлены небольшим числом. Часто обнаруживались кровоизлияния (рис. 3.1.1.1 в). Несмотря на то, что коагуляции подвергался небольшой участок, некротические явления в местах ЭХ воздействия оказывались весьма обширными и, как правило, превышали непосредственно зону коагуляции в 2-3 раза, распространяясь на прилежащую, ранее “здоровую” яичниковую ткань (рис. 3.1.1.1 г). У животных, которым произведена ЭХ коагуляция яйцеводов (+/- маточных рогов), отмечено появление единичных участков венозного стаза в сосудах брыжейки рогов матки, умеренная гиперемия и отечность яичников. Рисунок коры яичников сохранён, нередко обнаруживались кровоизлияния. Этим животным коагулировались только маточные трубы, но некротические изменения обнаруживались и на яичниках в непосредственной близости участка коагуляции. У крыс с ЭХ удалением маточных рогов (+/- яйцеводов) признаки спаечного процесса, в отличие от животных других групп, обнаруживались всегда. В брюшной полости жидкость, пласты фибрина. Визуализировались рыхлые, легко удаляемые спайки между зоной оперативного вмешательства и сальником. Нередко маточные придатки оказывались припаянными к брюшной стенке.

На 30-60-е сутки яичники имели крупнокистозный рисунок, количество фолликулов оказывалось небольшим. На поверхности гонад невооружённым глазом были заметны кистозные образования, достигающие 2 мм в диаметре у животных всех экспериментальных групп (рис. 3.1.1.1 д). После применения ДГЭА количество фолликулов было несколько большим по сравнению с таковым у животных после различных видов оперативных вмешательств, кистообразование сохранялось (рис. 3.1.1.1 е). У крыс с ЭХ коагуляцией

яйцеводов маточные рога были несколько отечными, гиперемизированными, нередко отмечалось наличие гидрометры, при вскрытии которой обнаруживалась прозрачная жидкость в объеме до 0,5-1,0 мл (рис. 3.1.1.1 ж). Спаечный процесс имел умеренно выраженный, но распространенный характер. Определялись множественные тонкие, бессосудистые, прозрачные и полупрозрачные спайки, удаляемые с небольшим напряжением мезосальпинкса или мезоовария (рис. 3.1.1.1 з). В большинстве случаев сальник, реже петли кишечника окутывали очаг ЭХ воздействия. Свободная жидкость в брюшной полости выявлялась только у отдельных животных, инфильтрация в области операционной раны отсутствовала. Гиперемия париетальной и висцеральной брюшины встречалась в единичных наблюдениях.

ЭХ воздействие на ОМТ вне зависимости от объема операции приводило к существенным изменениям в кольпоцитологической картине. На 2-е сутки после операции у животных появлялся диэструс (рис. 3.1.2.1), однако к 30-60-м суткам эстральный цикл, как правило, сопровождался укорочением диэструса и удлинением эструса, был неустойчивым. У некоторых крыс эстральный цикл соответствовал таковому в контроле уже с 30-х суток опыта.

Таким образом, оценивая состояние органов брюшной полости при аутопсии, $V_{я}$, данные кольпоцитологии в различные сроки опыта, можно считать, что СЭ, ГЭ или сочетанный объем операции с использованием биполярной коагуляции приводят к обширному спайкообразованию, формированию кист яичников и повреждению интактных тканей гонад. Спаечный процесс более выражен у животных, которым произведено ЭХ удаление маточных рогов (+/- яйцеводов). При ЭХ коагуляция яйцеводов (+/- маточных рогов) встречаются очаги повреждения коры гонад. ЭХ воздействие на ОМТ приводит к снижению $V_{я}$ к 30-60-м суткам, однако за счёт формирования кист в эти сроки $V_{я}$ значимо не отличим от контроля вне зависимости от применения ДГЭА. Кольпоцитологические изменения свидетельствуют об изменении физиологической регуляции между яичником и гипофизом.

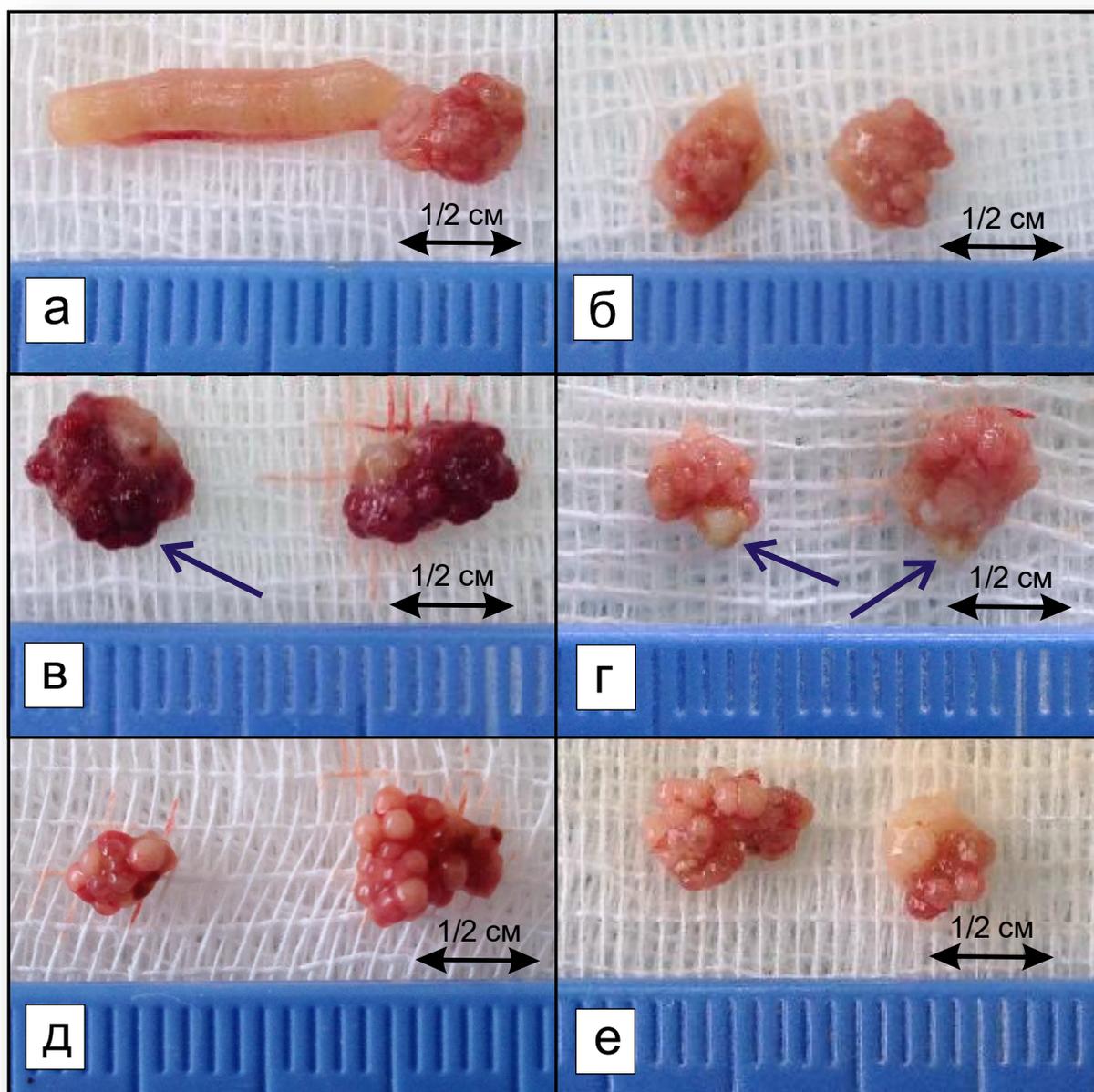


Рис. 3.1.1.1 Макроскопический вид яичников экспериментальных животных до фиксации в формалине: а – фрагмент маточного рога, яйцевод и яичник крысы группы контроля на 10-е сутки от начала эксперимента; б – общий вид яичников ложнооперированной крысы на 30-е сутки от начала эксперимента; в – отёк, гиперемия яичников, множественные кровоизлияния (стрелка) на 10-е сутки после ЭХ коагуляции яйцеводов; г – отёк яичников, коагуляционные некрозы (стрелка) на 10-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов; д – гиперемия яичников, атрофия левого яичника, формирование кист в правом яичнике на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов; е – общий вид яичников на 30-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов и 28-дневного применения ДГЭА (кистообразование).

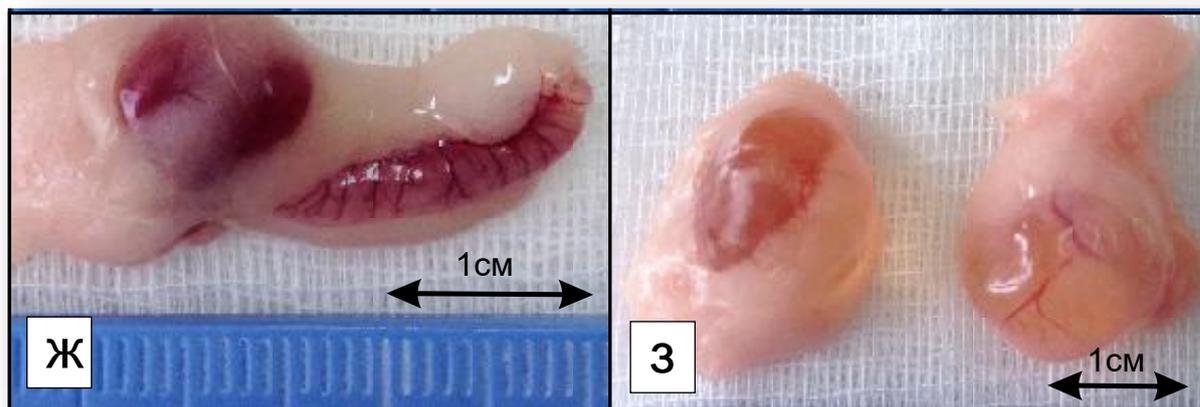


Рис. 3.1.1.1 (продолжение) ж – гиперемия маточного рога, гидрометра, спаечный процесс с формированием серозоцеле вокруг яичника на 30-е сутки после ЭХ коагуляции яйцеводов; з – общий вид яичников на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (спаечный процесс, серозоцеле).

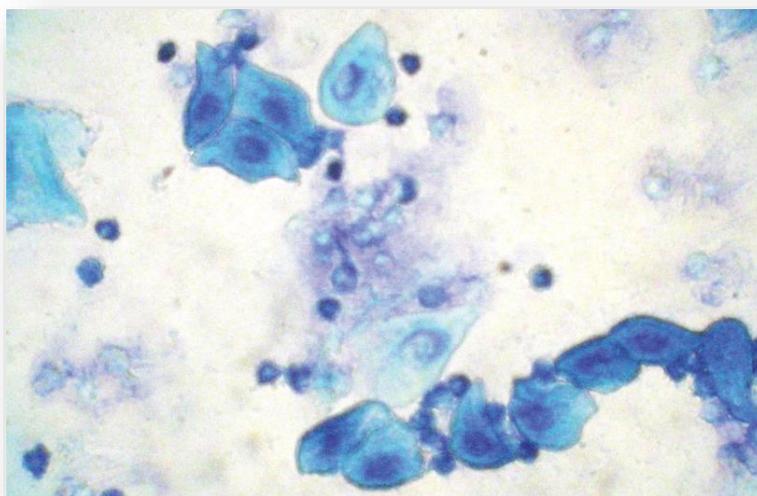


Рис. 3.1.2.1.Кольпоцитологические изменения влагалищного мазка (стадия диэструса) на 2-е сутки после ЭХ коагуляции яичников (преобладают поверхностные и промежуточные клетки, их ядра средней величины, встречаются единичные лейкоциты). Окраска метиленовой синью. Увел. 600.

3.2. Результаты гормонального исследования

Средние концентрации АМГ, ФСГ, ингибина В и Тес у экспериментальных животных представлены в таблице 3.2.1 и на рисунках 3.2.1-4.

Таблица 3.2.1. Средние концентрации гормонов у подопытных животных (M±SE; ±SD)

	АМГ (нг/мл)	тестостерон (нмоль/л)	ФСГ (мМЕ/мл)	ингибин В (пг/мл)
Основная ^{1.1.2} (10 сутки) электрокоагуляция яичников (ЭХ+)		2,73±0,08; ±0,25		
Основная ^{1.2.1.2} (10 сутки) удаление маточных рогов (ЭХ+)	4,67±0,28; ±0,69	3,08±0,16; ±0,38	2,73±0,03; ±0,06	
Основная ^{1.2.2.2} (10 сутки) удаление маточных рогов (лигирование+)			2,22±0,14; ±0,44	39,3±1,6; ±5,1
Основная ^{1.2.2.3} (30 сутки) удаление маточных рогов (лигирование+)			3,17±0,22; ±0,77	33,7±2,0; ±6,9
Основная ^{1.2.2.5} (60 сутки) удаление маточных рогов (лигирование+)			2,92±0,14; ±0,43	70,2±6,0; ±19,1*
Основная ^{1.3.2} (10 сутки) удаление яйцеводов (ЭХ+)	2,67±0,20; ±0,50*	1,82±0,32; ±0,77*	2,42±0,11; ±0,26	
Основная ^{1.4.1.1} (2 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	2,13±0,09; ±0,22*	2,61±0,20; ±0,49	2,74±0,01; ±0,03	
Основная ^{1.4.1.2} (10 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	2,01±0,02; ±0,05*	1,45±0,05; ±0,12*	2,92±0,07; ±0,18	
Основная ^{1.4.1.3} (30 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	1,96±0,03; ±0,07*	2,76±0,24; ±0,58	2,74±0,09; ±0,22	
Основная ^{1.4.1.4} (40 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	2,67±0,19; ±0,46*	2,18±0,18; ±0,45	3,32±0,18; ±0,44*	
Основная ^{1.4.2.3} (30 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (лигирование+)			2,83±0,29; ±0,82	35,2±2,8; ±7,8
Группа сравнения ^{2.3} (30 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	3,28±0,23; ±0,56*	3,56±0,13; ±0,32	2,91±0,04; ±0,11	
Группа сравнения ^{2.4} (40 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	3,42±0,21; ±0,52*	3,19±0,31; ±0,76	2,86±0,05; ±0,12	
Контроль	5,19±0,13; ±0,31	3,27±0,33; ±0,80	2,71±0,09; ±0,31	42,2±1,4; ±3,5

Примечание: * – значимые отличия при сравнении с контролем t-тестом Стьюдента (представлены для общего ознакомления). Расчёт критического р произведён с учётом решения проблемы множественных сравнений (в зависимости от количества сравниваемых групп), а также заменой и использованием более специализированных критериев, выбор которых подробно представлен в тексте).

Значения тестостерона, антимюллерова и фолликулостимулирующего гормонов у животных с электрохирургическим удалением маточных рогов и яйцеводов (1.4.1.1-5)

Первым этапом проведены внутригрупповые сравнения. ANOVA показал, что в течение 40 суток наблюдения концентрации АМГ, ФСГ и Тес изменялись значимо ($F_{3,20}=9,7$, $p<0,001$; $F_{3,20}=6,4$, $p=0,003$ и $F_{3,20}=10,5$; $p<0,001$, соответственно). 59,2% для АМГ, 49,2% для ФСГ и 61,2% для Тес всей вариабельности гормонов было обусловлено межгрупповыми различиями. Робастные критерии равенства средних – Брауна-Форсайта и Уэлча демонстрировали аналогичный результат: для АМГ $F=9,7$, $p=0,006$ и $F=5,1$, $p=0,022$; для ФСГ $F=6,4$, $p=0,012$ и $F=4,6$, $p=0,035$, соответственно. Для Тес дисперсии гомогенны, результаты ANOVA актуальны (тест Левена, $p=0,108$).

Согласно тестам Дункана, Габриэля, REGWQ (Ryan, Einot, Gabriel, Welsh Q-критерию) для АМГ и ФСГ были выделены 2 гомогенные подгруппы, одна из которых включала концентрацию гормонов на 40-е сутки наблюдения, а другая остальные 3 точки наблюдения. Это означало, что концентрации АМГ и ФСГ на 40-е сутки отличалась от таковых на 2, 10 и 30-е сутки эксперимента, на которые, в свою очередь, не было различия между собой для каждого из гормонов. Для Тес также было выделено 2 подгруппы: 10-40-е сутки и 2-30-40-е сутки.

При критическом $p=0,0085$ (см. «статистические методы») тест Габриэля показал значимые отличия при сравнении концентрации АМГ на 40-е сутки с таковой на 30-е ($p=0,001$), 10-е ($p=0,001$), и почти значимые на 2-е ($p=0,009$); при сравнении концентрации ФСГ на 40-е сутки с таковой на 30-е ($p=0,006$), 2-е ($p=0,007$), и почти значимые на 10-е ($p=0,089$); при сравнении концентрации Тес на 10-е сутки с таковой на 2-е ($p=0,001$), 30-е ($p<0,001$), незначимые на 40-е ($p=0,056$). В условиях неравенства дисперсий для АМГ и ФСГ дополнительно исследованы T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла. Значимые различия для АМГ и ФСГ ни один из методов между различными точками опыта не показал.

Для подтверждения гипотезы о том, что выявленные подгруппы являлись значимыми: 40:2-10-30 (для АМГ и ФСГ) и 10-40:2-30-40 (для Тес), а парные

сравнения по каждую сторону подгруппы несущественными, был проведен ANOVA с исключением 40-х суток для АМГ и ФСГ, 10-х суток для Тес, а также анализ контрастов или трендов (линейная комбинация коэффициентов, каждый из которых соответствовал отдельной категории независимой переменной). Мощность последнего теста выше последовательного проведения ANOVA и методов множественного сравнения на основе парных t-тестов. В отличие от предыдущих тестов анализ трендов позволял сравнить лишь некоторые из групп, а не каждую друг с другом.

Согласно ANOVA концентрации АМГ, ФСГ и Т значимо не отличались при исключении интересующих точек эксперимента ($F_{2,15}=2,5$, $p=0,118$; $F_{2,15}=2,4$, $p=0,129$ и $F_{2,15}=2,1$; $p=0,156$, соответственно). Аналогичный результат демонстрировал анализ контрастов: значимых различий при парных сравнениях между 2-10-и сутками, 2-30-и сутками, 10-30-и сутками для АМГ ($p=0,252$, $p=0,120$, $p=0,159$, соответственно) и ФСГ ($p=0,059$, $p=0,986$, $p=0,153$, соответственно), 2-30-и сутками, 2-40-и сутками для Тес ($p=0,568$, $p=0,108$, соответственно) не выявлено. Однако, при сравнении концентраций АМГ и ФСГ на 40-е сутки опыта одномоментно с тремя другими точками (2, 10 и 30-е сутки), а также Тес на 10-е сутки с тремя другими точками (2, 30 и 40-е сутки) при использовании линейного тренда получена значимая разница в условиях неравенства дисперсий $p=0,018$ для АМГ, $p=0,034$ для ФСГ; при равных дисперсиях $p<0,001$ для Тес.

Таким образом, концентрации АМГ и ФСГ на 40-е сутки по средним значениям была выше таковых на другие точки эксперимента в среднем на 31,3% и 18,6%, соответственно, Тес на 10-е сутки ниже на 57,6%.

При применении корреляционного анализа показано, что с 10-х суток опыта появляется значимая сильная обратная зависимость между концентрациями ФСГ и Тес ($r_p=-0,968$, $p=0,001$), сохраняющаяся в течение месяца после операции ($r_p=-0,872$, $p=0,024$), а к моменту окончания эксперимента исчезающая ($r_p=0,376$, $p=0,462$). На 2-е сутки взаимосвязи не установлено ($r_p=-0,386$, $p=0,450$). Наличие обратной зависимости между указанными гормонами может свидетельствовать

о сохранной конверсии Тес в E_2 и проявлении механизма отрицательной обратной связи между яичниками и гипофизом (снижение Тес, вероятно и E_2 приводит к относительному повышению ФСГ). Других значимых взаимосвязей (Тес-АМГ, АМГ-ФСГ) ни в одной точке эксперимента не выявлено ($p \geq 0,111$).

При сравнении с контролем ANOVA показал, что концентрации АМГ, ФСГ и Тес изменяются значимо ($F_{4,25}=157,0$, $p < 0,001$; $F_{4,31}=5,6$, $p=0,002$ и $F_{4,25}=9,8$; $p < 0,001$, соответственно). Для объективизации сравнений в условии неравенства дисперсий были представлены робастные критерии Брауна-Форсайта и Уэлча: для АМГ $F=157,0$, $p < 0,001$ и $F=138,6$, $p < 0,001$; для ФСГ $F=5,9$, $p=0,005$ и $F=3,4$, $p=0,043$, соответственно.

Как проведено ранее, ANOVA с исключением 40-х суток опыта для АМГ и ФСГ, 10-х и 40-х суток для Тес показал, что значимые отличия при сравнении 2-10-30-х суток эксперимента с контролем для АМГ сохранялись ($F_{3,20}=387,5$, $p < 0,001$), для ФСГ ($F_{3,26}=1,2$, $p=0,345$) и Тес ($F_{2,15}=1,8$, $p=0,203$) отсутствовали. Т.е. только на 40-е сутки опыта имелись значимые отличия концентрации ФСГ от контроля. При анализе критерия контраста было произведено одномоментное сравнение всех точек эксперимента опытной группы с контролем (коэффициент контраста для 2, 10, 30 и 40 суток опыта «-1», контроля – «4»). Для каждого из гормонов были получены значимые отличия (контроль значимо отличался от опыта): для АМГ и ФСГ в условиях неравенства дисперсий $p < 0,001$ и $p=0,045$, соответственно, для Т при гомогенных дисперсиях $p=0,025$.

Согласно тестам Дункана, Габриэля, REGWQ для АМГ было выделено три гомогенные подгруппы: две внутри экспериментальной группы (40-е сутки и остальные точки эксперимента, описано ранее) и контрольная. Для ФСГ две гомогенные подгруппы остались без изменений: 40-е сутки и 2-10-30-е сутки, контрольные значения гормона вошли во вторую подгруппу. Для Тес было выделено три подгруппы: 10-40-е сутки; 2-30-40-е сутки и контроль-2-30-е сутки (т.е. значимые отличия можно было предположить для 10-х суток эксперимента).

При попарном сравнении 4 точек эксперимента с контролем тестами Габриэля, Т2 Тамхейна, Геймса-Хоуэла, Т3 Даннетта, 2-сторонним t-критерием

Даннетта (сравнение только с контролем) был установлен критический уровень значимости равный $p=0,0127$ (см. «статистические методы»). Для АМГ максимально значимые отличия были выявлены в каждом из тестов при попарном сравнении контроля с различными точками эксперимента ($p<0,001$). Для ФСГ критерии Т2 Тамхейна, Геймса-Хоуэла, Т3 Даннетта значимой разницы не выявили. Однако, тесты Габриэля ($p<0,001$) и t-Даннетта ($p<0,001$) демонстрировали максимально значимую разницу концентраций гормона при сравнении контроля и 40-х суток опыта. Аналогично ФСГ критерии Т2 Тамхейна, Геймса-Хоуэла, Т3 Даннетта для Тес значимой разницы не выявили, тесты Габриэля ($p<0,001$) и t-Даннетта ($p<0,001$) демонстрировали максимально значимую разницу концентраций гормона при сравнении контроля и 10-х суток опыта (значимые различия также были выявлены t-критерием Даннетта при сравнении контроля с 40-и сутками опыта, $p=0,006$).

При корреляционном анализе в контрольной группе значимых взаимосвязей между концентрациями АМГ и ФСГ ($r_p = -0,338$, $p=0,512$), АМГ и Т ($r_p=0,625$, $p=0,184$), ФСГ и Т ($r_p = -0,005$, $p=0,992$) выявлено не было.

Значения тестостерона, антимюллера и фолликулостимулирующего гормонов для групп животных с электрохирургическим удалением маточных рогов (1.2.1.2), яйцеводов (1.3.2) (рис. 3.2.1-3)

Учитывая всего лишь одну точку опыта (10-е сутки после операции) для вышеперечисленных групп животных, прежде всего, были проведены парные сравнения с такой же точкой эксперимента для животных с удаленными маточными рогами и яйцеводами (1.4.1.2), а также контролем. Учитывая нормальное распределение тестом выбора был t-Стьюдента и Уэлча при неравномерных дисперсиях.

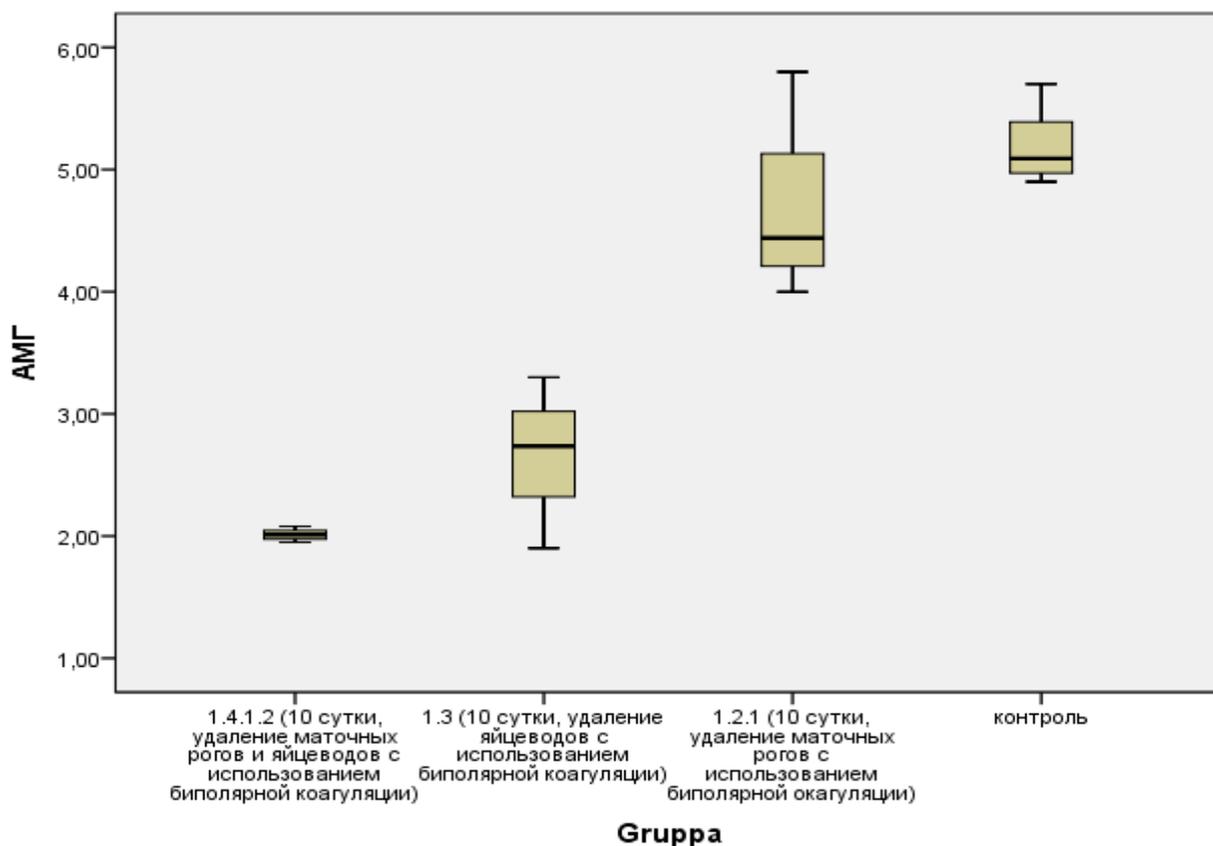


Рис. 3.2.1. Ствол-лист диаграмма средних концентраций АМГ (нг/мл)

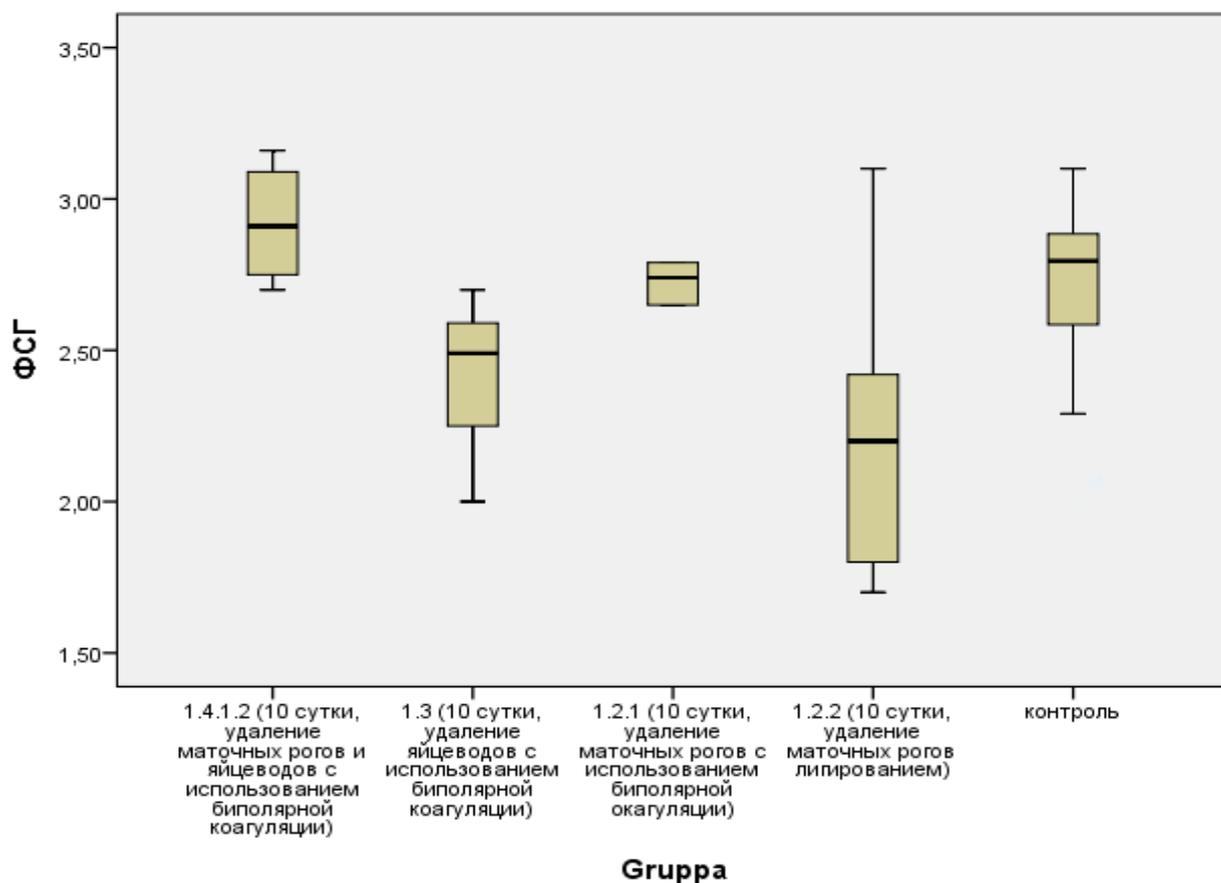


Рис. 3.2. 2. Ствол-лист диаграмма средних концентраций ФСГ (мМЕ/мл)

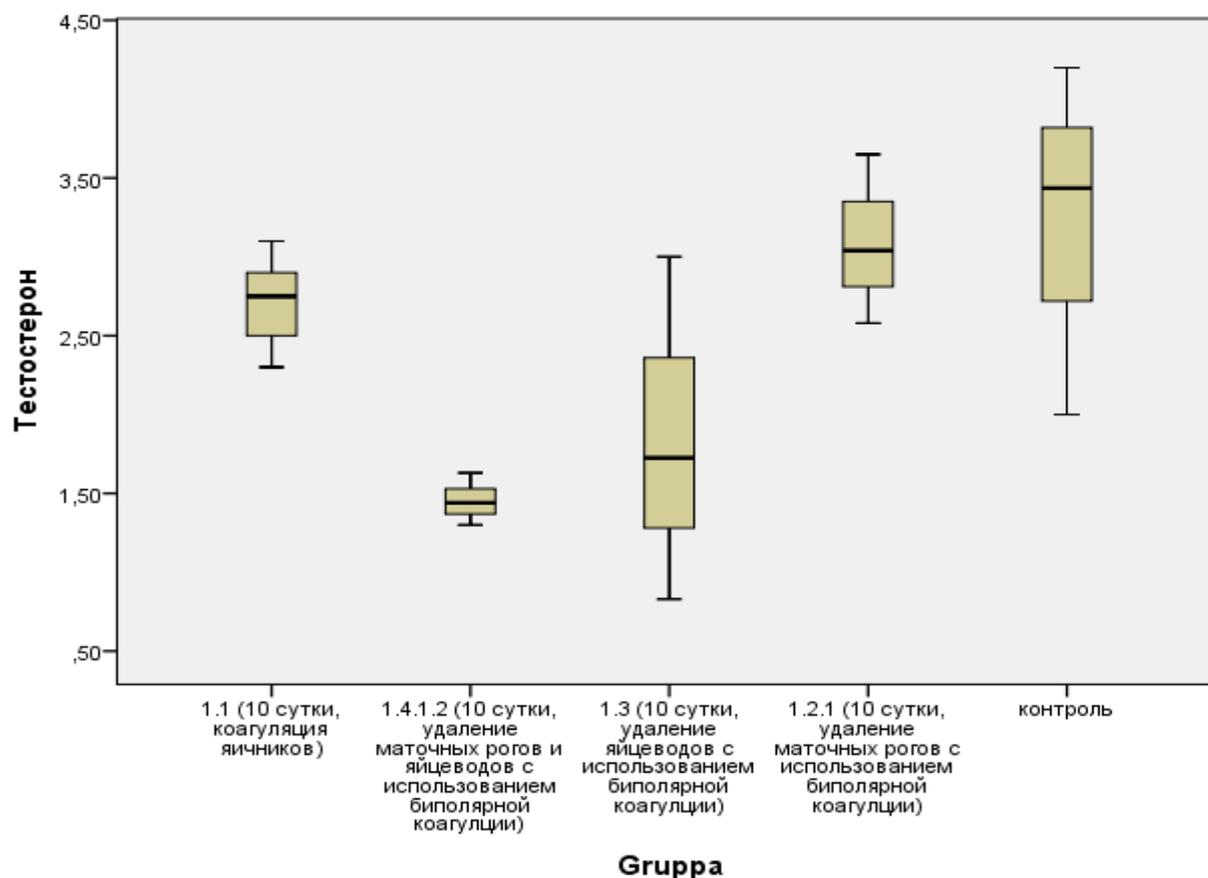


Рис. 3.2.3. Ствол-лист диаграмма средних концентраций Тес (нмоль/л)

При сравнении средних концентраций ФСГ, АМГ и Тес на 10-е сутки опыта у животных с удаленными яйцеводами (1.3.2) ($M=2,42$; 2,67; 1,82, соответственно) с таковыми у крыс с удаленными маточными рогами и яйцеводами (1.4.1.2) ($M=2,92$; 2,01; 1,45, соответственно) были показаны значимые отличия для ФСГ t-критерием ($t_{(10)}=-3,9$, $p=0,003$) и АМГ t-Уэлча ($t_{(5)}=3,2$, $p=0,023$), незначимые для Тес t-Уэлча ($t_{(5)}=1,2$, $p=0,299$).

При сравнении средних концентраций ФСГ, АМГ и Тес на 10-е сутки опыта у животных с удаленными маточными рогами (1.2.1.2) ($M=2,73$; 4,67; 3,08, соответственно) с таковыми у крыс с удаленными маточными рогами и яйцеводами (1.4.1.2) ($M=2,92$; 2,01; 1,45, соответственно) были показаны значимые отличия для каждого из гормонов: t-критерием для ФСГ ($t_{(10)}=-2,5$, $p=0,033$) и Тес ($t_{(10)}=10,0$, $p<0,001$), t-Уэлча для АМГ ($t_{(5,0)}=9,5$, $p<0,001$).

При сравнении средних концентраций ФСГ, АМГ и Т на 10-е сутки опыта у животных с удаленными яйцеводами (1.3.2) с таковыми у крыс в контроле t-

критерием были выявлены незначимые отличия для ФСГ ($t_{(16)} = -1,9$, $p=0,07$), значимые для АМГ ($t_{(10)} = -10,5$, $p<0,001$) и Тес ($t_{(10)} = -3,2$, $p=0,01$).

При сравнении средних концентраций ФСГ, АМГ и Тес на 10-е сутки опыта у животных с удаленными маточными рогами (1.2.1.2) с таковыми у крыс в контроле показывались незначимые отличия для каждого из гормонов: ФСГ t-Уэлча ($t_{(13)} = 0,2$, $p=0,819$); АМГ t-Стьюдента ($t_{(10)} = -1,7$, $p=0,122$); Тес t-Стьюдента ($t_{(10)} = -0,5$, $p=0,611$).

Далее проводилось сравнение концентраций гормонов на 10-е сутки опыта у животных с удаленными маточными рогами (1.2.1.2) с таковыми при удалении яйцеводов (1.3.2). При сравнении указанных групп значимые отличия были показаны для каждого из гормонов: ФСГ t-Уэлча ($t_{(6)} = 2,8$, $p=0,032$); АМГ t-Стьюдента ($t_{(10)} = 5,8$, $p<0,001$); Тес t-Стьюдента ($t_{(10)} = 3,6$, $p=0,005$).

Для подтверждения или опровержения полученных данных были проведены сравнения между группами 1.2.1.2 / 1.3.2 / 1.4.1.2 / контроль ANOVA, робастными критериями (АМГ и Тес) и рядом апостериорных критериев. Значимые различия были получены ANOVA для каждого из гормонов: АМГ ($F_{3,20} = 68,9$, $p<0,001$), ФСГ ($F_{3,26} = 4,2$, $p=0,014$), Тес ($F_{3,20} = 14,0$, $p<0,001$). Аналогичные данные выявлялись критериями Уэлча и Брауна-Форсайта для АМГ ($p<0,001$) и Т ($p<0,001$).

Для последующих апостериорных сравнений был установлен критический уровень значимости $p=0,017$. Для ФСГ каждым из апостериорных тестов (предполагающим равенство дисперсий) выявлялась значимая разница только при сравнении в группах 1.3.2 / 1.4.1.2, Тьюки HSD ($p=0,008$), Шеффе ($p=0,016$), Бонферрони, Шидак, Габриэля, Гохберга ($p=0,009$), в то время как, при сравнениях 1.3.2 / 1.2.1.2 ($0,159 \leq p \leq 0,238$, каждым из тестов), 1.3.2 / контроль ($0,118 \leq p \leq 0,172$, каждым из тестов), 1.2.1.2 / 1.4.1.2 ($0,531 \leq p \leq 1,0$, каждым из тестов), 1.2.1.2 / контроль ($0,998 \leq p \leq 1,0$, каждым из тестов), 1.4.1.2 / контроль ($0,317 \leq p \leq 0,547$, каждым из тестов) значимой разницы не было выявлено. Согласно критериям Стьюдента-Ньюмена-Келса, Тьюки в, F и Q REGW смещенных однородных подмножеств для ФСГ не обнаружено (гомогенными

подгруппами оказывались: 1) 1.3.2 / контроль / 1.2.1.2 и 2) контроль / 1.2.1.2 / 1.4.1.2). Кроме того, двухсторонний t-Даннетта при сравнении 1.4.1.2, 1.3.2, 1.2.1.2 с контролем также не выявил значимой разницы ($p=0,230$, $p=0,076$, $p=0,997$). Таким образом, ранее показанные сравнения для ФСГ t-тестом значимые между 1.3.2 / 1.4.1.2, незначимые между 1.2.1.2 / контроль, 1.4.1.2 / контроль подтвердились, неубедительные в плане значимости между 1.3.2 / контроль и между 1.2.1.2 / 1.4.1.2 были опровергнуты, а значимые между 1.3.2 / 1.2.1.2 оказались несущественными.

Для АМГ тестами T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла была показана значимая разница при сравнении в группах 1.3.2 / контроль ($p<0,001$), 1.4.1.2 / контроль ($p<0,001$), 1.2.1.2 / 1.4.1.2 ($p=0,001$) и 1.2.1.2 / 1.3.2 ($p\leq 0,002$) и незначимая при сравнениях 1.2.1.2 / контроль ($p\geq 0,394$) и 1.3.2 / 1.4.1.2 ($p\geq 0,081$). Согласно критериям Стьюдента-Ньюмена-Келса, Тьюки в, F и Q REGW для АМГ выделено три гомогенных подмножества: 1) 1.4.1.2, 2) 1.3.2, 3) 1.2.1.2 / контроль. Двухсторонний t-Даннетта при сравнении 1.4.1.2, 1.3.2 с контролем также выявил значимую разницу ($p<0,001$) и незначимую для 1.2.1.2 -контроль ($p=0,146$). Таким образом, ранее показанные сравнения для АМГ t-тестом и U-Манна-Уитни значимые между 1.4.1.2 / 1.2.1.2, между 1.3.2 / 1.2.1.2, между 1.4.1.2 / контроль, между 1.3.2 / контроль и незначимые между 1.2.1.2 / контроль подтвердились, а неубедительные в плане значимости между 1.3.2 / 1.4.1.2 были опровергнуты.

Для Тес тестами T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла была показана значимая разница при сравнении в группах 1.4.1.2 / контроль ($p\leq 0,014$), 1.2.1.2 / 1.4.1.2 ($p<0,001$). При сравнениях 1.2.1.2 / контроль ($p\geq 0,950$), 1.3.2 / 1.4.1.2 ($p\geq 0,676$), 1.3.2 / контроль (T2 Тамхейна и T3 Даннетта, $p\geq 0,051$; Геймса-Хоуэла, $p=0,041$), 1.3.2 / 1.2.1.2 (T2 Тамхейна, $p=0,050$; T3 Даннетта, $p=0,042$; Геймса-Хоуэла, $p=0,034$) значимой разницы не выявлено. Согласно критериям Стьюдента-Ньюмена-Келса, Тьюки в, Дункана, F и Q REGW для Тес было выделено два гомогенных подмножества: 1) 1.4.1.2 / 1.3.2, 2) 1.2.1.2 / контроль. Двухсторонний t-Даннетта при сравнении 1.4.1.2, 1.3.2 с

контролем выявил значимую разницу ($p < 0,001$) и незначимую 1.2.1.2 с контролем ($p = 0,900$). Таким образом, ранее показанные сравнения для Тес t-тестом значимые между 1.4.1.2 / 1.2.1.2, между 1.4.1.2 / контроль, незначимые 1.2.1.2 / контроль, 1.3.2 / 1.4.1.2 подтвердились, а значимые ранее между 1.3.2 / 1.2.1.2, между 1.3.2 / контроль оказались несущественными.

Значения фолликулостимулирующего гормона и ингибина В (рис. 3.2.4) для животных с удаленными маточными рогами (1.2.2.2-5), дополнительно яйцеводами (1.4.2.3) путем лигирования

Для установления роли типа хирургической энергии (электрической или механической) в изменении гормонального статуса экспериментальных животных проводились дальнейшие исследования. Прежде всего сравнивались концентрации ФСГ и ингибина В после лигирования маточных рогов в течение 60-и суток эксперимента (группа 1.2.2.2-5).

ANOVA показал, что в течение 60-и суток эксперимента концентрация ФСГ изменялась значимо ($F_{2,29} = 7,5$, $p = 0,002$). Апостериорными тестами Дункана, Габриэля, REGWQ для ФСГ были выделены две значимые гомогенные подгруппы: 10-е сутки и 60-30-е сутки. Значимые различия согласно тесту Габриэля выявлялись при сравнении гормона на 10 / 30-е и 10 / 60-е ($p = 0,002$ и $p = 0,035$, соответственно) и незначимые при сравнении 30 / 60-е ($p = 0,691$). Для подтверждения гипотезы о наличии подгрупп был проведен анализ трендов с коэффициентами контрастов для 10-х суток «-2», 30 и 60-х суток «1». Линейный тренд также показал значимую разницу в условиях равных дисперсий; $p = 0,001$.

Н-тест Краскела-Уоллиса (ненормальное распределение значений для ингибина В) демонстрировал значимую разницу концентраций гормона ($H = 21,837$, $p < 0,001$). Post hoc U-Манна-Уитни не выявили значимых различий концентраций ингибина В между 10-и ($Me = 38,9$) и 30-и ($Me = 32,9$) сутками ($U = 30,5$, $Z = -1,9$, $p = 0,052$). В тоже время значимые данные были получены при сравнении концентрации ингибина В на 60-е сутки ($Me = 65,4$) с таковой на 10-е сутки ($U < 0,1$, $Z = -3,8$, $p < 0,001$) и 30-е сутки ($U < 0,1$, $Z = -4,0$, $p < 0,001$) опыта.

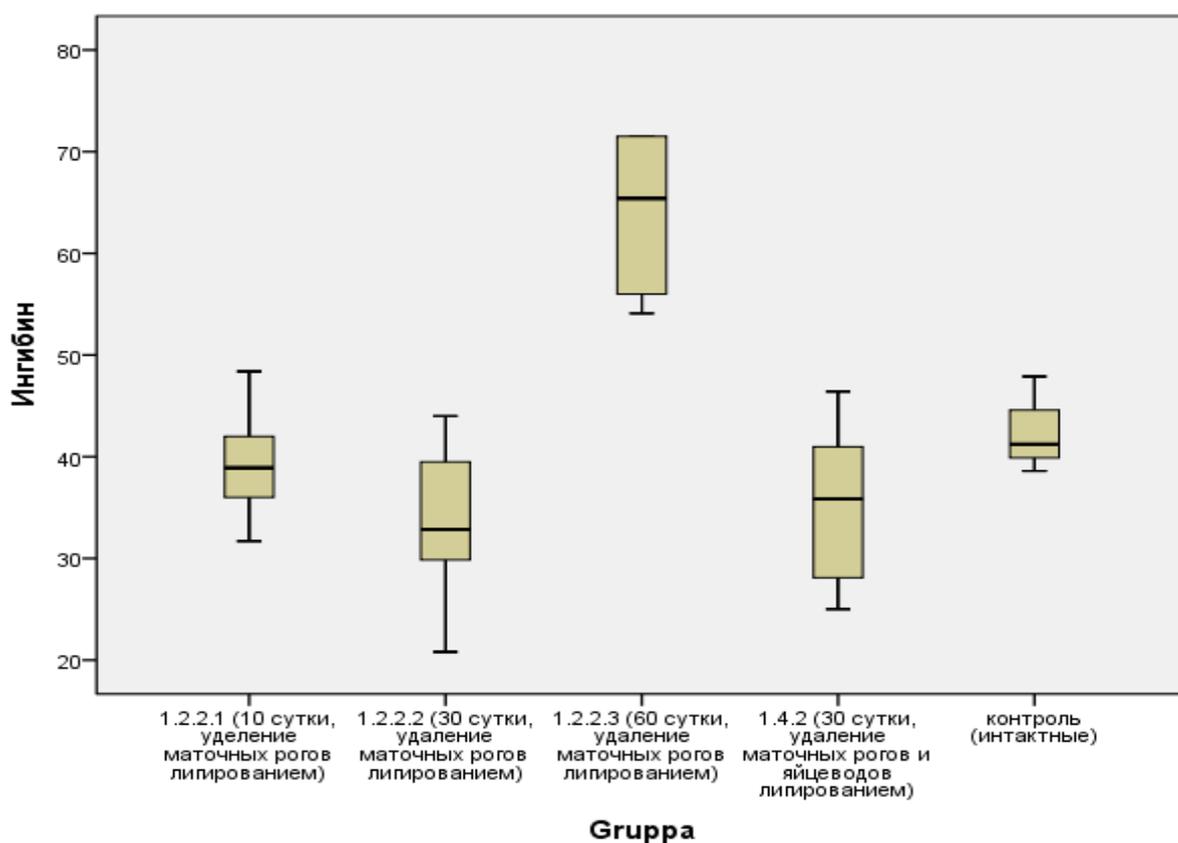


Рис. 3.2.4. Ствол-лист диаграмма средних концентраций ингибина В (пг/мл)

Далее проводилось сравнение концентраций ФСГ и ингибина В на 30-е сутки после операции лигирования маточных рогов (1.2.2.3) с таковыми при лигировании маточных рогов и яйцеводов (1.4.2.3). Значимых различий при сравнении t-Стьюдента не было получено: концентрации ФСГ между группами 1.2.2.3 ($M=3,17$) и 1.4.2.3 ($M=2,83$; $t_{(18)} = -1,0$, $p=0,352$), ингибина В между группами 1.2.2.3 ($M=33,7$) и 1.4.2.3 ($M=35,2$; $t_{(18)}=0,4$, $p=0,665$).

Следующим этапом работы явилось собственно сравнение 2-х видов хирургических энергий (механической и электрохирургической): сравнение концентрации ФСГ на 30-е сутки опыта после операций лигирования маточных рогов и яйцеводов (1.4.2.3) с таковым после операции электрохирургического удаления маточных рогов и яйцеводов (1.4.1.3), а также сравнение концентрации ФСГ на 10-е сутки эксперимента после операции изолированного лигирования маточных рогов (1.2.2.2) с таковым после операции электрохирургического изолированного удаления маточных рогов (1.2.1.2). Сравнение концентраций ФСГ между группами 1.2.2 и 1.4.1 (1.3), равно как и сравнение между группами

1.4.2 и 1.2.1 (1.3) оказывалось методологически неправильным. Значимых различий в концентрации ФСГ на 30-е сутки опыта для групп 1.4.1.3 и 1.4.2.3 t-Уэлча не получено ($t_{(8)} = -0,3$, $p=0,782$). В то же время t-Уэлча выявлял значимые различия при сравнении концентраций ФСГ на 10-е сутки эксперимента для групп 1.2.1.2 и 1.2.2.2 ($t_{(10)}=3,6$, $p=0,005$).

Далее сравнивались концентрации ФСГ и ингибина В групп 1.2.2.2-5 и 1.4.2.3 с таковыми в контроле. При сравнении концентраций ФСГ и ингибина В у животных на 30-е сутки после удаления маточных рогов и яйцеводов (1.4.2.3) с таковыми в контроле t-Уэлча выявлены незначимые различия ($t_{(8)}=0,4$, $p=0,702$) для ФСГ и значимые ($t_{(10)} = -2,3$, $p=0,046$) для ингибина В.

При сравнении групп 1.2.2.2-5 (10, 30 и 60-е сутки) и контроля ANOVA показал, что имелись значимые различия в концентрациях ФСГ ($F_{3,40}=6,3$, $p=0,001$) и ингибина В ($F_{3,34}=22,8$, $p<0,001$). Робастные критерии Брауна-Форсайта и Уэлча (для ингибина В в условиях неравенства дисперсий) демонстрировали аналогичный результат ($F=24,9$, $p<0,001$ и $F=11,8$, $p<0,001$, соответственно). Результаты логичны, так как значимые отличия были и при внутригрупповом сравнении только в группе 1.2.2.

Для исключения влияния внутригрупповых отличий на полученный результат сравнения с контролем дополнительно проводился ANOVA с исключением 10-х суток опыта для ФСГ, 60-х суток для ингибина В, а также анализ трендов и апостериорные тесты. ANOVA демонстрировал, что значимых отличий при сравнении 30-60-х суток эксперимента с контролем для ФСГ нет ($F_{2,31}=2,2$, $p=0,132$). В то же время при сравнении 10-30-х суток эксперимента с контролем для ингибина В имела место значимая разница ($F_{2,25}=5,2$, $p=0,013$), подтверждаемая критериями Брауна-Форсайта и Уэлча ($F=6,4$, $p=0,006$ и $F=5,9$, $p=0,012$). Как и предполагалось, согласно тестам Дункана, Габриэля, REGWQ для ФСГ и ингибина В было выделено две гомогенные подгруппы, с исключением 10-х суток для первого (10:30-60-контроль) и 60-х суток для второго (60:10-30-контроль) гормона. Оставалось выяснить, есть ли значимые отличия между контрольными значениями и опытными при исключении выше

указанных точек эксперимента. При анализе критерия контраста производилось одномоментное сравнение всех точек эксперимента опытной группы с контролем (коэффициенты контраста для 10, 30 и 60-х суток опыта «-1», контроля – «3»). Для ФСГ в условиях равенства дисперсий $p=0,721$, ингибина В в условиях неравенства дисперсий $p=0,049$.

Для апостериорных парных тестов устанавливался критический уровень значимости равный $p=0,017$ (см. «статистические методы»). Для ФСГ при парном сравнении каждой из трех точек эксперимента (10, 30 и 60-е сутки для группы 1.2.2) с контролем значимых различий не было получено: тест Габриэля ($p \geq 0,191$), Т2 Тамхейна ($p \geq 0,058$), Геймса-Хоуэла ($p \geq 0,044$), Т3 Даннетта ($p \geq 0,054$), 2-сторонний t-критерий Даннетта ($p \geq 0,092$). Для ингибина В при парном сравнении 10-х и 30-х суток опыта с контролем каждым из представленных выше тестов получен незначимый результат ($p \geq 0,018$). В то же время сравнение 60-х суток опыта и контроля демонстрировали существенные отличия ($p \leq 0,007$). Таким образом, ни одна из выше указанных точек эксперимента не отличалась по средней концентрации ФСГ от контроля. Концентрация ингибина В на 10-е и 30-е сутки соответствовала таковой в контроле, а на 60-е сутки опыта была существенно выше как контроля, так и более ранних сроков опыта.

Значения антимюллера (рис. 3.2.5), фолликулостимулирующего гормонов и тестостерона для животных получавших дегидроэпиандростерон после электрохирургического удаления маточных рогов и яйцеводов (2.3-4)

Для установления возможной роли ДГЭА в изменении гормонального статуса экспериментальных животных было проведено изучение динамики концентраций АМГ, ФСГ, Тес на 30-е и 40-е сутки после операции (группа 2) t-тестом Стьюдента. Значимых различий при сравнении не было получено для АМГ на 30-е сутки ($M=3,28$) и 40-е сутки опыта ($M=3,42$; $t_{(10)} = -0,4$, $p=0,664$), ФСГ на 30-е сутки ($M=2,91$) и 40-е сутки опыта ($M=2,86$; $t_{(10)}=0,7$, $p=0,483$), Тес на 30-е сутки ($M=3,56$) и 40-е сутки опыта ($M=3,19$; $t_{(10)}=1,1$, $p=0,304$).

Далее сравнивались концентрации АМГ, ФСГ и Тес после применения ДГЭА (2.3-4) с таковыми в аналогичные сроки опыта после операции удаления маточных рогов и яйцеводов с использованием ЭХ без применения прогормона (1.4.1.3-4) и контролем. Значимые различия на 30-е сутки опыта были получены для АМГ t-Уэлча между группами 2.3 (M=3,28) и 1.4.1.3 (M=1,96, $t_{(5)}=5,7$, $p=0,02$) и Тес t-Стьюдента между группами 2.3 (M=3,56) и 1.4.1.3 (M=2,76, $t_{(10)}=3,0$, $p=0,014$); незначимые для ФСГ t-Стьюдента между группами 2.3 (M=2,91) и 1.4.1.3 (M=2,74, $t_{(10)}=1,7$, $p=0,126$). На 40-е сутки эксперимента были получены значимые различия для каждого из гормонов: АМГ t-Стьюдента между группами 2.4 (M=3,42) и 1.4.1.4 (M=2,67, $t_{(10)}=2,7$, $p=0,024$); Тес t-Стьюдента между группами 2.4 (M=3,19) и 1.4.1.4 (M=2,18, $t_{(10)}=2,8$, $p=0,019$); ФСГ t-Стьюдента между группами 2.4 (M=2,86) и 1.4.1.4 (M=3,32, $t_{(10)}=-2,5$, $p=0,033$).

При сравнении каждой точки опыта (2.3 и 2.4) с контролем значимые различия выявлялись только для АМГ t-тестом на 30-е ($t_{(10)}=-7,3$, $p<0,001$) и 40-е сутки опыта ($t_{(10)}=-7,2$, $p<0,001$). Для ФСГ t-тестом на 30-е ($t_{(16)}=1,5$, $p=0,144$), 40-е сутки опыта ($t_{(16)}=1,2$, $p=0,263$) и Тес t-тестом на 30-е ($t_{(10)}=0,8$, $p=0,429$), 40-е сутки опыта ($t_{(10)}=-0,2$, $p=0,868$) анализ показал отсутствие значимой разницы.

Для подтверждения или опровержения обозначенных эффектов были проведены ANOVA, post hoc тесты на 30-е сутки в группах 2.3-1.4.1.3-контроль и 40-е сутки опыта в группах 2.4-1.4.1.4-контроль. На 30-е сутки значимые отличия были получены ANOVA для АМГ ($F_{2,15}=113,9$, $p<0,001$), незначимые для ФСГ ($F_{2,21}=1,3$, $p=0,292$) и Тес ($F_{2,15}=2,7$, $p=0,096$). Робастные критерии Уэлча и Брауна-Форсайта для АМГ (гетерогенные дисперсии) показывали аналогичный результат ($p<0,001$). Все post hoc (T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла) для АМГ при парных сравнениях 2.3 / 1.4.1.3, 2.3 / контроль, 1.4.1.3 / контроль оказались существенными ($p\leq 0,006$). На 40-е сутки значимые отличия были получены ANOVA для каждого из гормонов: АМГ ($F_{2,15}=52,8$, $p<0,001$), ФСГ ($F_{2,21}=7,6$, $p=0,003$), и Тес ($F_{2,15}=4,7$, $p=0,027$). Проводился анализ трендов с коэффициентами контрастов «-1» для групп 2.3 и контроля, «2» для группы 1.4.1.3, а также апостериорные тесты Шидак, Шеффе, Тьюки HSD, GT2

Гохберга, Габриэля и двусторонний t-Даннетта. При анализе контрастов с указанными ранее коэффициентами выявлялась значимая разница для АМГ ($p < 0,001$), ФСГ ($p = 0,002$) и Тес ($p = 0,008$). Для АМГ при сравнении вышеперечисленные апостериорные критерии демонстрировали значимую разность между группами 2.4 / контроль, 1.4.1.4 / контроль ($p < 0,001$). В то же время при сравнении АМГ между группами 2.4 / 1.4.1.4 большинством тестов показано отсутствие значимой разницы: Тьюки HSD ($p = 0,024$), Шеффе ($p = 0,031$), Шидак ($p = 0,028$), Габриэля ($p = 0,028$), Гохберга ($p = 0,028$), учитывая критический $p = 0,0253$. Для ФСГ между группами 2.4 / 1.4.1.4 все апостериорные тесты показывали незначимый результат: Тьюки HSD ($p = 0,049$), Шеффе ($p = 0,061$), Шидак ($p = 0,057$), Габриэля ($p = 0,056$), Гохберга ($p = 0,056$). Далее при сравнении ФСГ между группами 2.4 / контроль было показано отсутствие значимой разницы ($0,344 \leq p \leq 1,0$); между группами 1.4.1.4 / контроль показано наличие значимой разницы ($0,001 \leq p \leq 0,003$). Для Тес между группами 2.4 / 1.4.1.4 также все post hoc тесты оказывались незначимыми: Тьюки HSD ($p = 0,055$), Шеффе ($p = 0,068$), Шидак ($p = 0,066$), Габриэля ($p = 0,064$), Гохберга ($p = 0,064$). При сравнении Тес между группами 2.4 / контроль было показано отсутствие значимой разницы каждым из тестов ($0,85 \leq p \leq 1,0$); между группами 1.4.1.4 / контроль также выявлялось отсутствие значимой разницы ($0,028 \leq p \leq 0,048$). При этом апостериорные тесты для ФСГ и Т все же выделяли две гомогенные подгруппы 2.4-контроль / 1.4.1.4.

Значения тестостерона (рис 3.2.6) для группы животных после электрокоагуляции гонад (1.1.2)

Ранее проводились сравнения концентраций гормонов при операциях без прямого повреждения яичников. Следующим этапом было сравнение концентраций Тес на 10-е сутки после непосредственного ЭХ воздействия на яичники (1.1.2) с таковым при операциях: удаления маточных рогов (1.2.1.2), яйцеводов (1.3.2) или их сочетания (1.4.1.2) и в контроле. Для Тес показана значимая разница при сравнении концентрации гормона у животных с ЭХ гонад (1.1.2) с таковым у крыс с удаленными яйцеводами (1.3.2) t Уэлча ($t_{(23)} = 4,8$,

$p < 0,001$), маточными рогами (1.2.1.2) t Стьюдента ($t_{(32)} = -2,8$, $p = 0,009$), или при их сочетании (1.4.1.2) t Уэлча ($t_{(12)} = 14,8$, $p < 0,001$), а также контролем t Уэлча ($t_{(38)} = -3,4$, $p = 0,002$).

Для подтверждения или опровержения обозначенных эффектов были проведены ANOVA с последующими апостериорными сравнениями на 10-е сутки в группах 1.1.2-1.3.2-1.2.1.2-1.4.1.2-контроль. ANOVA демонстрировал значимые различия ($F_{4,89} = 35,5$, $p < 0,001$). Критерии Уэлча и Брауна-Форсайта (учитывая гетерогенные дисперсии) показывали аналогичный результат ($p < 0,001$), а в качестве апостериорных сравнений выбраны критерии T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла и установлен критический уровень значимости $p = 0,0127$ (сравнение 4-х групп с контролем). Значимые различия были получены только при сравнениях между 1.1.2 и 1.4.1.2 ($p < 0,001$), между 1.1.2 и 1.3.2 ($p = 0,001$), почти значимые между 1.1.2 и контролем ($p \leq 0,015$) и незначимые между 1.1.2 и 1.2.1.2 ($p \geq 0,028$). Кроме того, тестами Габриэля, Гохберга, Шеффе, Тьюки HSD, диапазоном и F Райана-Эйнота-Габриэля-Уэлша было выявлено два однородных подмножества: 1) 1.4.1.2-1.3.2, 2) 1.1.2-1.2.1.2-контроль. Согласно двустороннему t -Даннетта значимо отличались от контроля только группы 1.3.2 ($p < 0,001$) и 1.4.1.2 ($p < 0,001$), незначимо 1.1.2 ($p = 0,04$), 1.2.1.2 ($p = 0,596$).

Таким образом, результаты гормонального исследования свидетельствуют о нарушении функции яичников при различных оперативных вмешательствах как на матке, так и на её придатках. Вместе с тем спектр изменений варьируют в зависимости от типа операции. Наибольшее угнетение функции гонад отмечается последовательно при их ЭХ, комбинированном удалении матки и маточных труб, коагуляции яйцеводов и затем маточных рогов. Применение ДГЭА ограничивает снижение ОР: предотвращает повышение ФСГ и уменьшение тестостерона, значительную утрату АМГ.

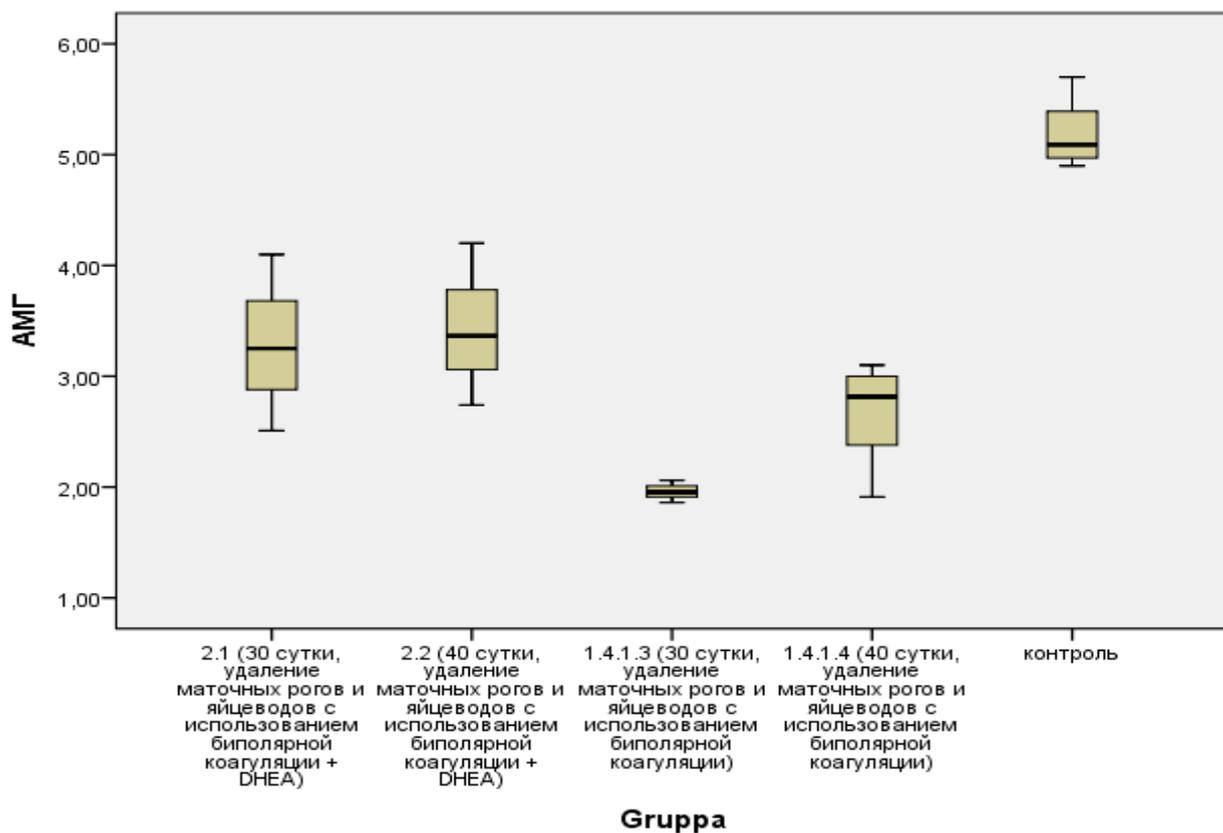


Рис. 3.2.5. Ствол-лист диаграмма средних концентраций АМГ (нг/мл)

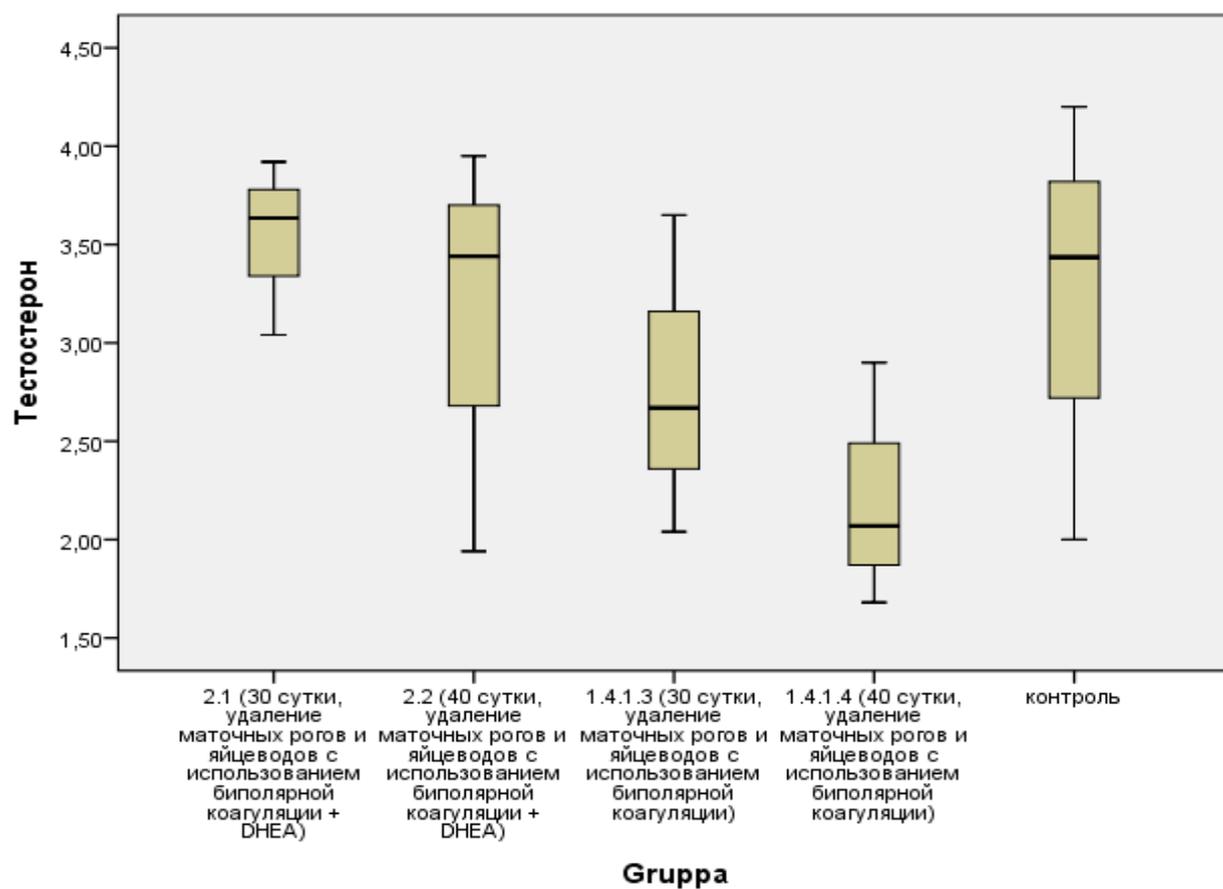


Рис. 3.2.6. Ствол-лист диаграмма средних концентраций Тес (нмоль/л)

3.3. Результаты морфологического исследования

3.3.1. Морфофункциональное состояние яичников после электрокоагуляции

При гистологическом исследовании яичников на 2-е сутки после ЭХ воздействия на месте коагуляции обнаруживались крупные очаги некроза, заполненные оксифильными гомогенными или мелкозернистыми массами, в которых практически отсутствовали клеточные элементы. Единичные клетки, выявляемые в указанных участках, характеризовались некробиотическими и некротическими изменениями, часто встречались гиперхромия, пикноз или рексис ядра. Белочная оболочка была утолщенной за счёт явлений отёка. Клетки покровного эпителия яичника характеризовались набуханием цитоплазмы, увеличением и гидропическими изменениями ядер. В местах, непосредственно контактирующих с зоной некроза, поверхностный эпителий был деструктивно изменен, в других участках часто десквамирован. На отдельных срезах яичника к покровному эпителию прилежали оксифильные фибриноидные массы.

При электронной микроскопии в очагах коагуляции в большом количестве встречались отдельные мелкие бесформенные фрагменты клеток без чёткой гистологической принадлежности. Внутренняя структура была почти полностью разрушена, редко обнаруживались органеллы и фрагменты ядра. Чаще всего вышеописанные изменения были характерны для овоцитов, фолликулярных эпителиоцитов РФ и эритроцитов сосудов, попавших в очаг коагуляции (рис. 3.3.1.1 а, б).

Генеративные элементы яичников на 2-е сутки после электрокоагуляции характеризовались существенными изменениями. РФ рядом с зоной воздействия были подвержены некробиотическим изменениям, проявляющимся гомогенизацией ядерного материала овоцитов, гидропическими нарушениями их цитоплазмы. В овоцитах некоторых фолликулов реиницировался мейоз и начиналось псевдодробление. Фолликулярные эпителиоциты при этом характеризовались дисконкомплексацией, фрагментацией или кариопикнозом ядра (рис. 3.3.1.2).

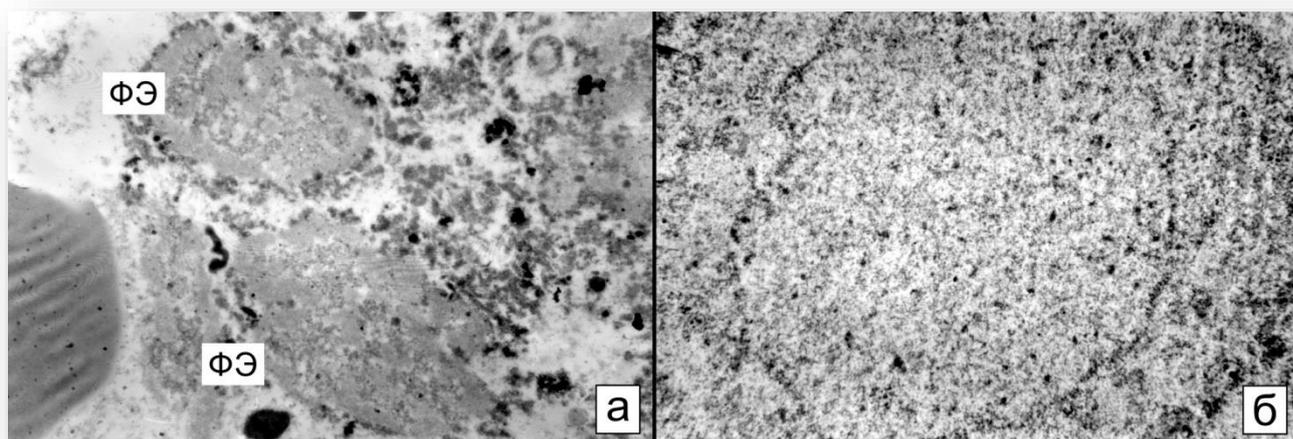


Рис. 3.3.1.1. Ультраструктурная организация ранее фолликулярных эпителиоцитов (а) и овоцита (б) в фолликуле яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. Деструкция ядер, обширные дефекты плазмо- и нуклеолеммы. ФЭ – фолликулярные эпителиоциты. Электронограмма. Увел. а – 4000, б – 3600.

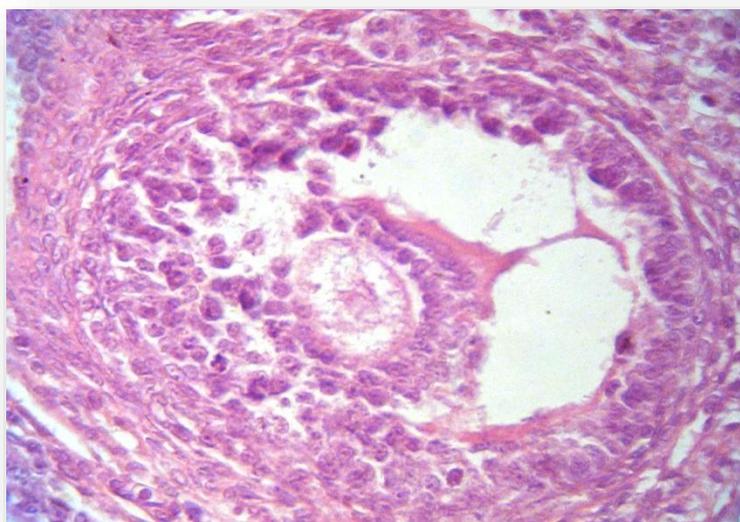


Рис. 3.3.1.2. Фрагмент яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. Вторичный фолликул рядом с зоной коагуляции. Дискомплексация фолликулярного эпителия, внутрифолликулярный отёк. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 600.

Ультраструктурная организация большинства фолликулярных эпителиоцитов и овоцитов, располагающихся рядом с зоной воздействия, была нарушена. Клетки тесно примыкали друг к другу, имели кубическую или призматическую форму, или располагались дезинтегрировано.

Спектр изменений структуры ядер клеток гранулёзы был весьма разнообразен. Хроматин конденсировался неупорядоченно в виде глыбок различного размера. Ядра уменьшались в объеме, становились сморщенными, плотными (рис. 3.3.1.3), либо отмечалась фестончатость контуров, маргинация хроматина, отсутствие ядерных пор. Клетки не изменяли своего объёма, ядро содержало сохранённое ядрышко в виде компактного тельца (рис. 3.3.1.4).

Деструкцию ядер фолликулярных эпителиоцитов сопровождали нарушения органелл и цитоплазматической мембраны. Рибосомы клеточных элементов были свободно разбросаны по цитоплазме, количество лизосом оказывалось повышенным. Переваривание эндоскелета, вероятно, являлись следствием действия протеаз. Наиболее часто имели место отёк, набухание и просветление матрикса, нарушение структуры митохондрий, неравномерное (очаговое) расширение канальцев гранулярного эндоплазматического ретикулума, распад мембран на отдельные фрагменты, вакуолизация комплекса Гольджи. Внешне цитоплазма выглядела просветлённой, вакуолизированной, была лишена стероидных гранул. Конечной стадией нарушений являлось тотальное разрушение клеток. Выход лизирующих ферментов с фрагментами органелл в межклеточное пространство инициировал воспалительную реакцию (рис. 3.3.1.5).

Клетки наружного и внутреннего слоёв теки в тесном контакте с зоной коагуляции имели нормальные размеры, характеризовались низкой электронной плотностью и вакуолизацией цитоплазмы, деструкцией клеточных органелл, набухшими ядрами, либо имели темный вид. Количество рибосом и гранул оказывалось сниженным (рис 3.3.1.6 а, б). Базальная мембрана, разделяющая теку и гранулёзу, была резко отёчна, деструктивно изменен (рис 3.3.1.7).

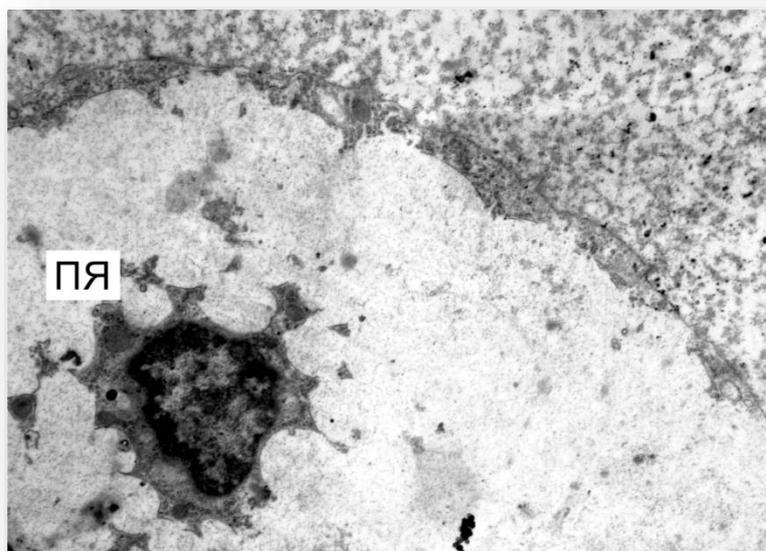


Рис. 3.3.1.3 Гибель овоцита растущего фолликула яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. Кариопикноз, деструкция органелл, дефекты плазмо- и нуклеолеммы. ПЯ – пикноз ядра. Электронограмма. Увел. 4000.

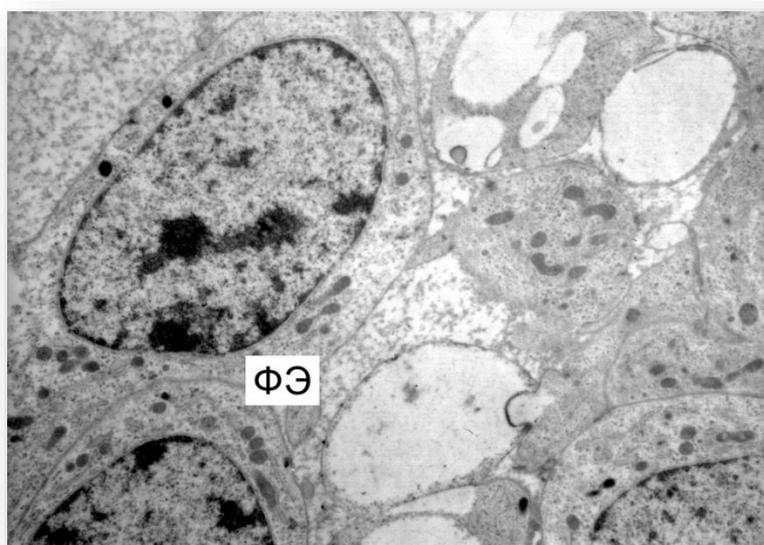


Рис. 3.3.1.4 Отёк цитоплазмы фолликулярных эпителиоцитов в висцеральной области растущего фолликула яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. ФЭ – фолликулярные эпителиоциты. Электронограмма. Увел. 4000.

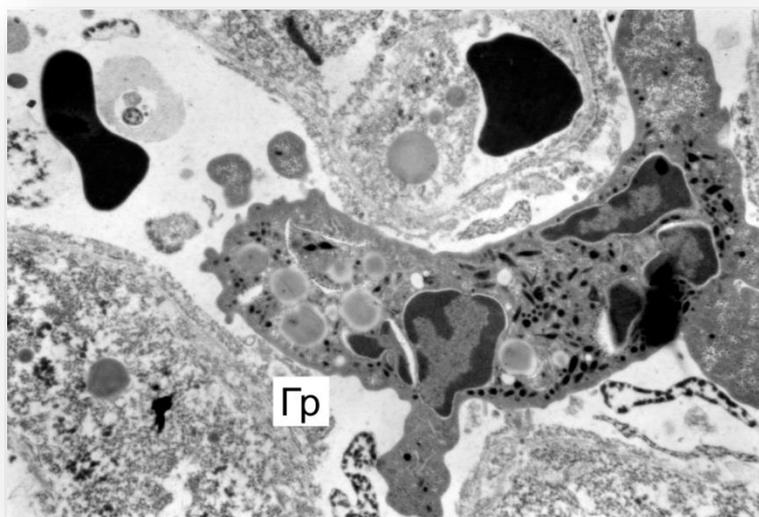


Рис. 3.3.1.5. Фрагмент зоны некроза растущего фолликула яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. Воспалительная реакция. Гр – гранулоцит (нейтрофильный). Электронограмма. Увел. 3200.

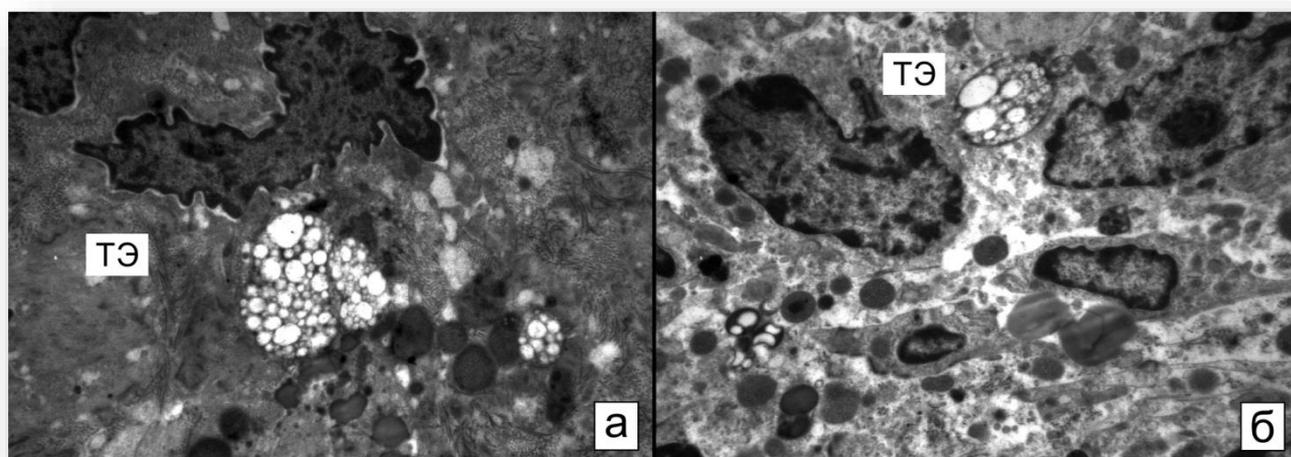


Рис. 3.3.1.6. Ультраструктурная организация текальных эндокриноцитов (ТЭ) в фолликуле яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. а – деструкция и вакуолизация клеток; б – деструкция и диссоциация клеток. Электронограмма. Увел. а, б – 4000.

Фолликулярный эпителий вне зоны коагуляции в большинстве случаев сохранял нормальную ультраструктуру, некоторые клетки переходили в митотическое состояние (рис. 3.3.1.8). Однако встречались клетки, обеднённые органеллами, с незначительным просветлением цитозоля. В РФ подобные изменения почти всегда захватывали овоцит, о чём свидетельствовали дезинтегративные ядерные и цитоплазматические нарушения. В первую очередь нарушалась связь овоцита с фолликулярным эпителием. Межклеточные контакты были разобщены. Количество цитоплазматических отростков фолликулярных клеток и микроворсинок овоцита уменьшено. Прозрачная оболочка компактная, однородная, неравномерно утолщена.

В полость РФ из сосудов мигрировали лейкоциты, что вероятно служило проявлением нарушения гематофолликулярного барьера. Немногочисленными оказывались фолликулы без морфологических признаков повреждения или имеющие минимальные признаки дегенерации.

ПФ оказывались более устойчивыми к повреждению, располагались в окружении некробиотически изменённых клеток стромы в непосредственной близости от зоны коагуляции. Обнаруживались ЖТ небольших размеров, чаще в стадии регресса. Их количество было снижено.

Кровеносные сосуды коркового вещества яичников вблизи некротических очагов были деструктивно изменены. Эндотелий десквамирован, ядра клеток средней и наружной оболочек не выявлялись. Имели место значительное расширение и застойное полнокровие вен и капилляров, в части сосудов – стаз, сладж форменных элементов крови (рис. 3.3.1.9), краевое расположение лейкоцитов и миграция их через сосудистую стенку в строму.

При электронной микроскопии в просвете сосудов микроциркуляторного русла часто наблюдались агрегация кровяных пластинок и сладж эритроцитов (рис. 3.3.1.10).

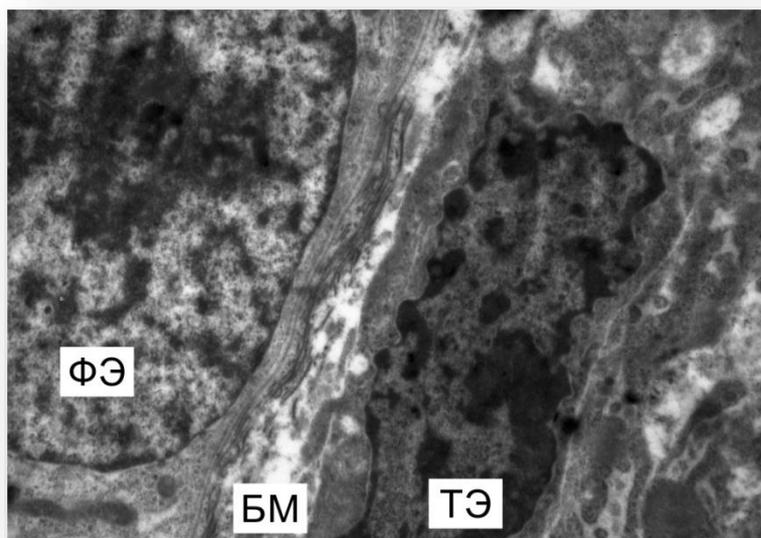


Рис. 3.3.1.7. Ультраструктурная организация растущего фолликула яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. Разрыхленность и разволокнение базальной мембраны, уменьшение общего количества органелл во всех типах клеток; отёк и набухание митохондрий. БМ – базальная мембрана, ТЭ – текальные эндокриноциты, ФЭ – фолликулярные эпителиоциты. Электронограмма. Увел. 5000.

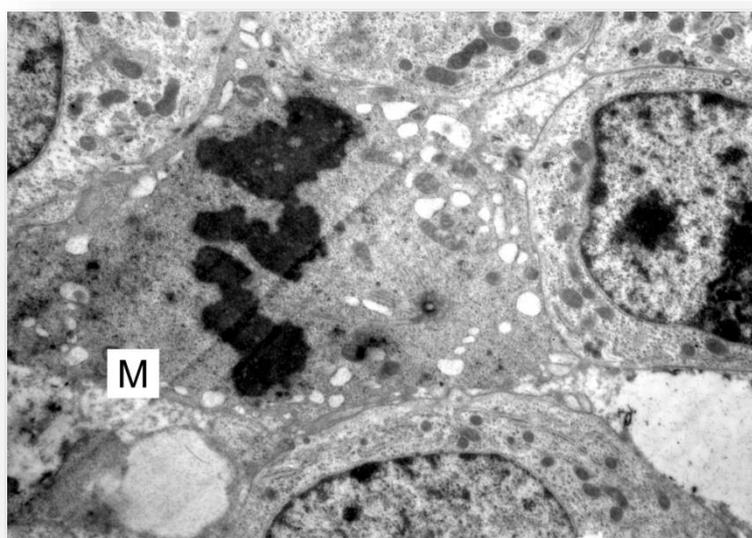


Рис. 3.3.1.8. Ультраструктурная организация клеток гранулёзы яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. Висцеральный фолликулярный эпителиоцит в метафазе митоза. М – митоз. Электронограмма. Увел. 4500.

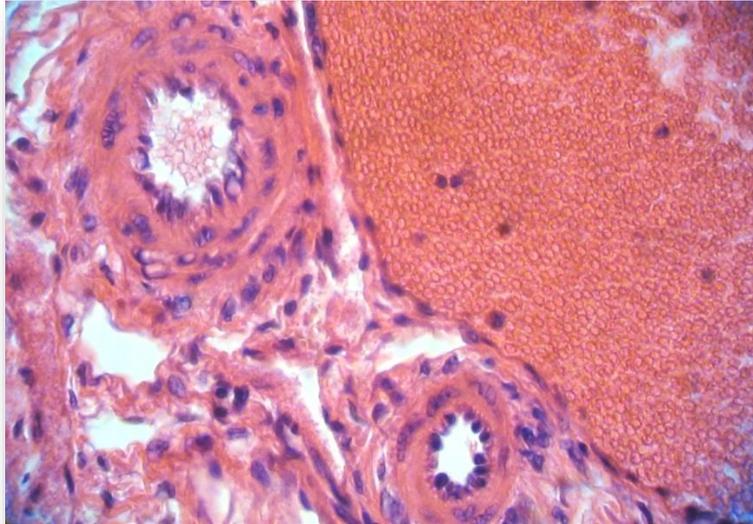


Рис. 3.3.1.9. Фрагмент яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. Расширение и полнокровие кровеносных сосудов мозгового вещества яичников. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 600.

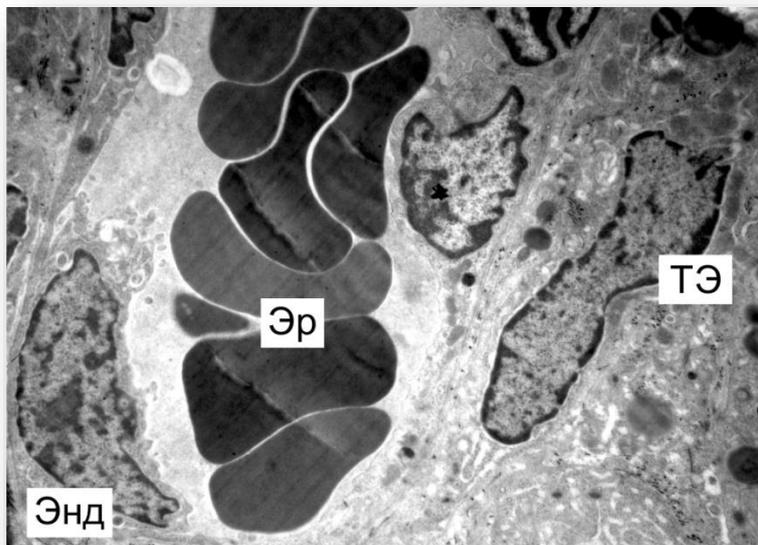


Рис. 3.3.1.10. Ультраструктурная организация гемокapилляра теки яичника крысы на 2-е сутки после электрокоагуляции. Сладж эритроцитов, отёк базальной мембраны. Энд – эндотелиоцит, Эр – эритроцит, ТЭ – текальный эндокриноцит. Электронограмма. Увел. – 4000.

Изменения в межклеточном веществе, характерные для фибриноидного некроза, охватывали основное вещество и волокнистые структуры. Соединительнотканная строма была резко отёчна, интенсивно инфильтрирована лейкоцитами. Коллагеновые волокна превращались в плотные, гомогенные массы, подвергающиеся фрагментации, глыбчатому распаду или лизису. В строме коркового и мозгового вещества встречались многочисленные макрофагальные клетки, активные формы которых характеризуются обширными выростами цитоплазмы. Клетки содержали большое количество первичных лизосом, различных по величине фаголизосом, вакуолей.

На 10-е сутки после оперативного вмешательства в местах коагуляции сохранялись очагово-некротические изменения. Участки уплотнялись, содержали гомогенный оксифильный детрит или были заполнены глыбчатым и мелкозернистым материалом. В перифокальных областях соединительная ткань характеризовалась отёком, волокнистые элементы были рассредоточены. Фибробласты имели некробиотические изменения в виде гиперхромии, деформации ядра, либо кариопикноза. В строме значительно увеличивалось количество малодифференцированных клеток и макрофагов. В корковом веществе яичников выявлялись локусы с наличием формирующейся «молодой» грануляционной ткани, представленной гипертрофированными фибробластами, сетью тонких коллагеновых волокон.

Пролиферация клеточных элементов наблюдалась в белочной оболочке. Последняя была утолщена, отёчна. Поверхностный эпителий часто оказывался десквамирован и деструктивно изменён, ядра пикнотизированы, цитоплазма отёчна. В гормонпродуцирующих клетках коркового и мозгового вещества в большом количестве встречались липидные вакуоли, возможно, как следствие компенсаторного увеличения секреции в них.

Сосудистая реакция в яичниках с увеличением сроков от момента воздействия электрическим током не ослабевала. Сосуды характеризовались дистрофическими изменениями, их стенки были гомогенизированы, вследствие чего выглядели однородно оксифильными. В соединительной ткани

периваскулярных областей отмечался отёк, обнаруживались клеточные инфильтраты, иногда мелкие кровоизлияния. В перифокальной зоне кровеносные сосуды были расширены и гиперемированы. Лейкоциты мигрировали через сосудистую стенку в строму яичника.

Генеративный аппарат был представлен большим по сравнению с предыдущими сроками эксперимента количеством РФ. Однако в большинстве из них выражены деструктивные изменения. В овоцитах наблюдались отёк цитоплазмы, её фрагментация, кариолизис. Выявлялись деформация прозрачной оболочки и дисконплексаия фолликулярного эпителия. Эпителиоциты характеризовались гидропическими изменениями цитоплазмы, кариолизисом, сморщиванием клеток и слущиванием их в просвет фолликулов. Выраженность деструктивных изменений значительно варьировала и зависела от удалённости клеточных элементов от очага коагуляции: чем ближе к зоне некроза, тем более выраженной была деструкция эпителиоцитов. ПФ, как правило, сохраняли целостность своей структуры.

Через 30-60 суток от момента ЭХ воздействия процессы резорбции оксифильных некротических масс достигали завершающего этапа. В очаг коагуляции выселялись лимфоциты, мононуклеары, обнаруживались фибробласты, макрофаги, перегруженные фагосомами; происходило замещение некротических очагов грануляционной тканью. В местах электрокоагуляции формировалась рубцовая ткань, выявлялись толстые коллагеновые волокна. Иницировалась кистозная трансформация фолликулов. Ретенционные кисты чаще формировались на стадии АФ. Кистозные образования представляли собой тонкостенные полости с ровными четкими краями.

Содержание генеративных элементов было снижено по сравнению с таковым в предыдущие сроки эксперимента. В корковом веществе обнаруживались ПФ, РФ, часть из которых имела обычное строение. Небольшое количество фолликулов достигало стадии предовуляторного фолликула.

Обращали на себя внимание изменения эндоцитоза теки: гипертрофия, увеличение размеров, кариопикноз, вакуолизация цитоплазмы.

Сосудистая реакция ослабевала, однако гемодинамические изменения в корковом и мозговом веществе яичника сохранялись в виде полнокровия, стаза форменных элементов, формирования пристеночных тромбов. Эндотелий нередко имел дефекты. Отмечались спазм некоторых мелких артерий, количество форменных элементов крови было умеренное. В адвентиции артерий имела место пролиферация соединительной ткани.

Таким образом, электрокоагуляция яичников характеризуется последовательным спектром изменений в них. В ранние сроки после воздействия наблюдалась кратковременная стимуляция роста фолликулов. В местах коагуляции имели место очагово-некротические изменения. Вне зоны термического воздействия развивались перифокальное асептическое воспаление и выраженные гемодинамические сосудистые нарушения. В дальнейшем наступали истощение компенсаторных возможностей яичников, замедление процессов роста и регенерации. Дегенеративные и деструктивные изменения, клеточных элементов РФ и стромы неизбежно влекли нарушения гормонального статуса, что подтверждалось изменениями в кольпоцитологической картине. ПФ оказывались более устойчивыми к повреждению. В связи со структурной неполноценностью РФ и гормональными нарушениями процессы атрезии в яичниках усиливались, что приводило в отдаленные сроки эксперимента, на 30-60-е сутки, к формированию кист. Кисты формировались, минуя стадию лютеинизации, чаще из АФ. Теряя специфические секреторные элементы – теку и гранулёзу, они лишались стероидной активности. К концу эксперимента некротические оксифильные массы замещались грануляционной тканью, которая затем преобразовалась в рубцовую. Перифокальная воспалительная реакция стихала, гемодинамические изменения шли на убыль.

3.3.2. Морфофункциональное состояние яичников с моделями электрохирургического удаления маточных рогов, яйцеводов, комбинированного объёма операции

При гистологическом исследовании яичников с моделью ЭХ удаления яйцеводов были выявлены все компоненты, имевшиеся в гонадах после ЭХ удаления маточных рогов, что позволило провести обобщённое описание морфологического строения яичников крыс в различные сроки эксперимента. Только применение морфометрии при изучении препаратов выявило морфологические отличия в строении гонад животных сравниваемых групп.

На 2-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов, маточных рогов, а также сочетанного объёма операции (СЭ + ГЭ) на первый план выступали признаки воспалительного процесса и изменения кровообращения яичников. Обширная лейкоцитарная инфильтрация имела место преимущественно в мозговом веществе. Параллельно указанные изменения регистрировались в парафолликулярных зонах преантральных и антральных фолликулов с признаками лютеинизации, ЖТ, в окружении АФ (рис. 3.3.2.1 и рис. 3.3.2.2 а, б). Наряду с дистрофически-некробиотическими изменениями фолликулярных гистионов (рис. 3.3.2.2 а, б) проявлением стадии повреждения перифокального воспаления в зонах демаркации служили нарушения гематофолликулярного барьера в виде миграции мононуклеаров из сосудов в полость фолликулов (рис. 3.3.2.3).

В непосредственной близости участка коагуляции выявлялись некробиотические изменения яичников от нарушения архитектоники фолликулярного эпителия (дискомплексация) до собственно изменений компонентов овоцитов и клеток гранулёзы: фрагментации и гидропических изменений ядер и цитоплазмы, кариопикноза. Изменения в большей степени встречались после ЭХ коагуляции яйцеводов (+/- маточных рогов) и практически отсутствовали при изолированном удалении маточных рогов, несмотря на то, что преднамеренного воздействия на гонады не проводилось.

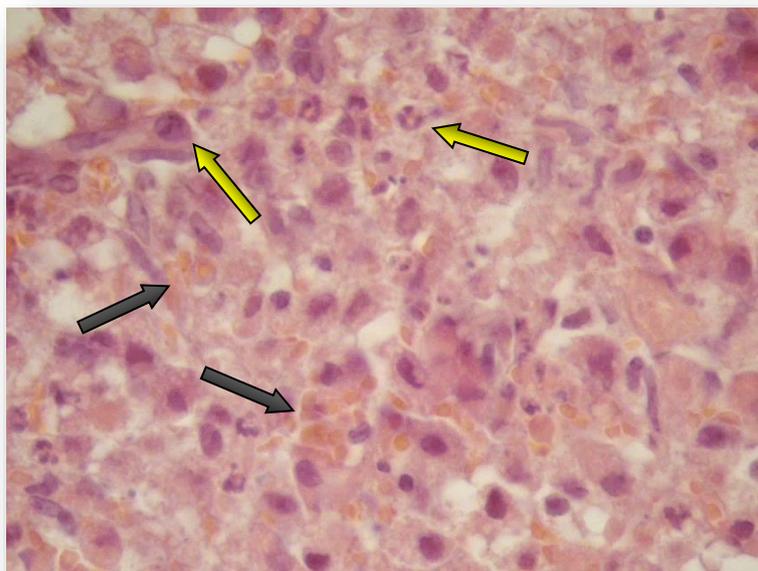


Рис. 3.3.2.1. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.1). Множественная локальная инфильтрация лейкоцитами (желтая стрелка) и имбибиция эритроцитами (чёрная стрелка) жёлтого тела. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

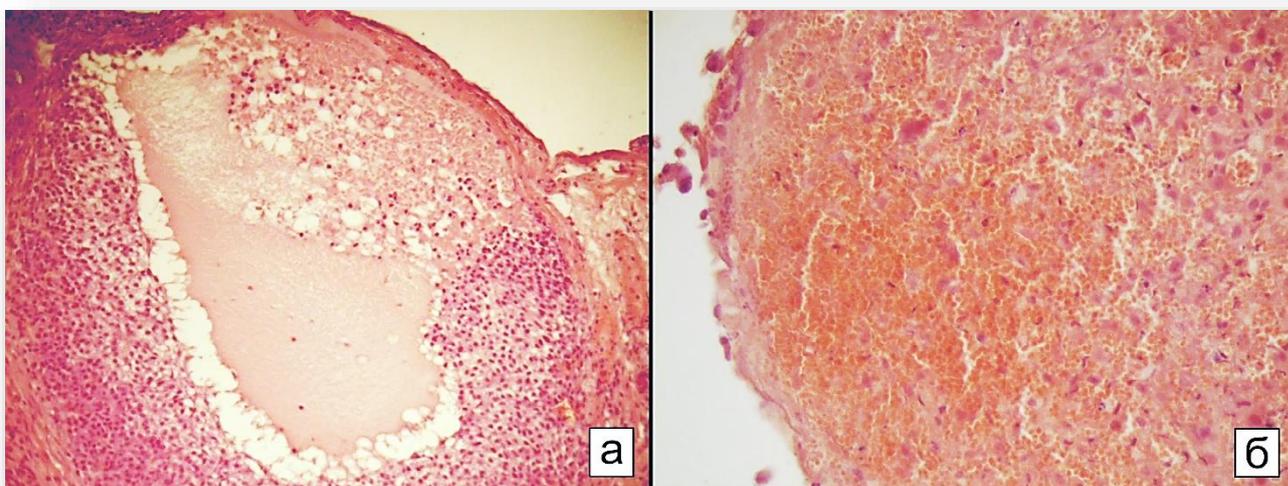


Рис. 3.3.2.2. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (группа 1.4.1.1). а – некроз фолликула (внутрифолликулярный отёк, деструктивно изменённые клетки гранулёзы), гомогенизация белочной оболочки; б – кровоизлияние в стенке фолликула, десквамация поверхностного эпителия. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. а, б – 400.

На бóльшей части поверхность яичников покрыта однослойным кубическим или цилиндрическим поверхностным эпителием (рис. 3.3.2.4). Под эпителием расположен соединительнотканый слой, представленный плотной волокнистой соединительной тканью с преимущественно коллагеновыми волокнами, расположенными в основном параллельно поверхности яичника – белочная оболочка без признаков деструктивных изменений. В местах контакта с зоной ЭХ воздействия, поверхностный эпителий был деструктивно изменен, на некоторых участках десквамирован, выявлялся отёк соединительной ткани, белочная оболочка оказывалась неравномерно утолщенной (рис. 3.3.2.5).

Корковое вещество содержало малый объём межклеточного вещества, состояло из веретеновидных клеток, напоминающих фибробласты. Строма поверхностной зоны коркового вещества яичников выглядела очень компактной (рис. 3.3.2.5). Во внутренней зоне коркового вещества яичников располагались фолликулы, находящиеся на разных этапах развития. Согласно Международной гистологической номенклатуре (2008) в яичниках подопытных животных встречались ПФ и более зрелые формы – ПРФ, ВРФ и ТРФ.

РФ располагались в более глубоких зонах коркового вещества, имели правильную округлую или овальную форму. Фолликулы, вступившие в стадию роста, характеризовались увеличением числа и размеров фолликулярных эпителиоцитов, формирующих несколько слоёв. Количество РФ на 2-е сутки изменялось в зависимости от объёма оперативного воздействия: по сравнению с контролем увеличивалось после удаления маточных рогов, в меньшей степени после удаления яйцеводов и снижалось после сочетанного объёма вмешательства. Вероятно, указанные изменения свидетельствовали о кратковременной стимуляции роста фолликулов (инициации) в указанных группах животных на ранних сроках эксперимента. Несмотря на то, что фолликулярный аппарат представлен фолликулами всех стадий развития, отмечалось преобладание ВРФ над всеми остальными во все сроки эксперимента вне зависимости от объёма оперативного вмешательства.

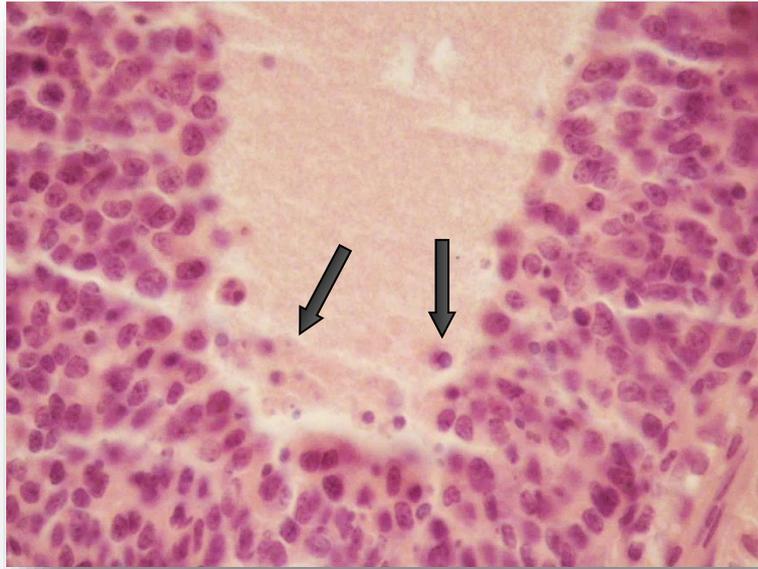


Рис. 3.3.2.3. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.1). Начальные этапы лютеинизации фолликулярной стенки, миграция мононуклеаров в полость фолликула (черная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

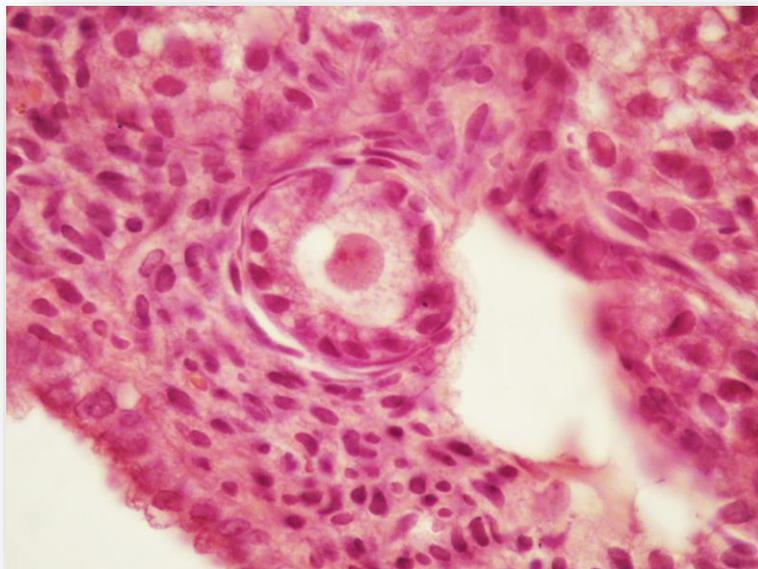


Рис. 3.3.2.4. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (группа 1.4.1.1). Первичный фолликул, парафолликулярный отёк. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

После одновременного удаления маточных рогов и яйцеводов РФ, имеющие нормальную структуру, оказывались малочисленными (рис. 3.3.2.6). С увеличением количества слоёв фолликулярных эпителиоцитов при созревании фолликула и формированием теки процессы дегенерации основных клеточных элементов гистина также оказывались более выраженными (рис. 3.3.2.7), чем в фолликулах более ранних этапов развития (рис. 3.3.2.4).

Помимо РФ, имеющих нормальную структуру, фолликулярный аппарат был представлен АФ, располагающимися одиночно или небольшими группами в одном регионе яичника. Структурные изменения могли являться следствием нарушения местной гемодинамики. Не достигая стадии зрелости значительная часть фолликулов претерпевала своеобразную перестройку деструктивного характера. Дегенеративные изменения фолликулярных эпителиоцитов проявлялись деформацией ядер, уменьшением размеров, отёком цитоплазмы, вплоть до полной эксфолиации гранулёзного слоя. При этом клетки теки оказывались морфологически не изменёнными, имели прежние размеры. Базальная мембрана гиалинизирована и утолщена. Данные изменения чаще обнаруживались в небольших ПРФ, что, вероятно, обуславливало определённый биологический смысл, заключающийся в поддержании поздних этапов фолликулогенеза за счёт резервного материала для дифференцировки наружного слоя теки в текальные эндокриноциты. Овоциты ПРФ, как правило, были сохранены за единственным исключением (рис. 3.3.2.8). Однако отмечено снижение количества ПРФ в сравнении с более зрелыми формами. Возможно, это связано с тем, что малые фолликулы быстрее подвергались процессам атрезии, и к моменту наблюдения уже сформировали атретические тела.

Атрезия более зрелых фолликулов сопровождалась изменением их конфигурации, гипертрофией обеих фолликулярных оболочек – гранулёзы и внутреннего слоя теки и отсутствием изменений базальной мембраны. Некоторые АФ характеризовались выраженным полнокровием сосудов внутреннего слоя теки.

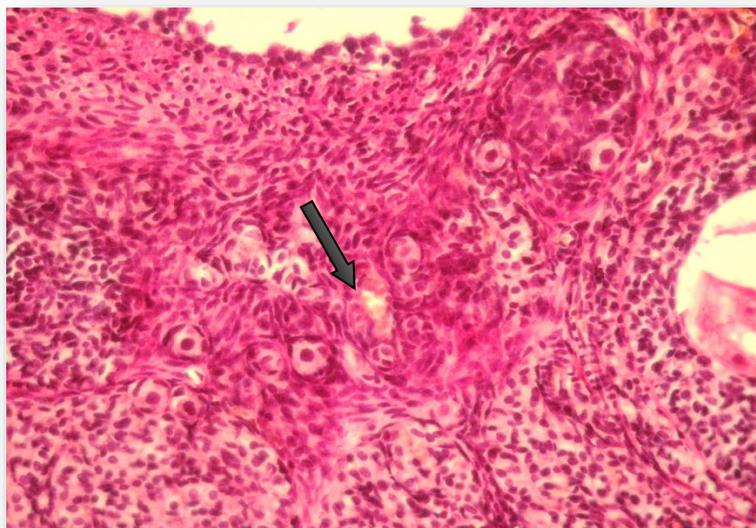


Рис. 3.3.2.5. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов (группа 1.2.1.1). Строма компактна, визуализируется единственный гемокapилляр (черная стрелка), вокруг которого группа морфологически неизменённых примордиальных фолликулов, расположенные периферийно. Окраска по Ван Гизону. Увел. а, б – 400.

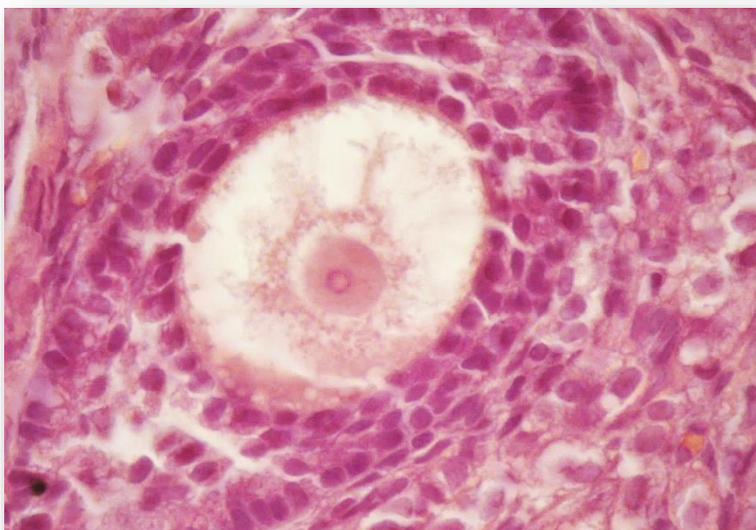


Рис. 3.3.2.6. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (группа 1.4.1.1). Начальные этапы формирования фолликулярной полости (вторичного фолликула) и текальной оболочки. Дискomплексация фолликулярного эпителия, отёк овоцита. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.



Рис. 3.3.2.7. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.1). Третичный фолликул: снижение эозинофилии цитоплазмы овоцита, дисконплексація фолликулярного эпителия. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

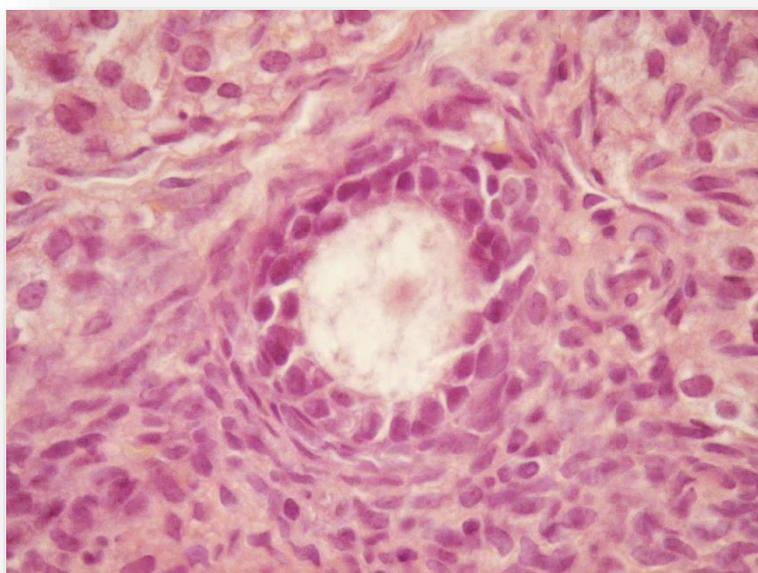


Рис. 3.3.2.8. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.1). Дегенеративные изменения первичного фолликула: отёк цитоплазмы овоцита и снижение её эозинофилии. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

Дегенеративные изменения овоцитов начинались со сморщивания ядра, появлялся отёк и гомогенизация цитоплазмы, снижалась её эозинофилия, зона pellucida становилась складчатой, утолщалась и гиалинизировалась, нередко заканчивались полным разрушением половой клетки (рис. 3.3.2.9 и 3.3.2.10). Соматический компонент фолликула также имел нарушения в виде дисконфлексии фолликулярного эпителия, изменения формы фолликулярных эпителиоцитов, кариорексиса, отмечалось сдувание клеток гранулёзы в фолликулярную полость. Одним из признаков атретического процесса в антральных фолликулах являлось снятие блока мейоза овоцита и его деление. Подтверждением цитокинеза являлось обнаружение редуцированного тельца. Примечательно, что в крупных АФ отмечались признаки выраженной дегенерации овоцита в сочетании с незначительными изменениями соматического компонента фолликула, тогда как известно, что атретические процессы в них начинаются с клеток гранулёзы и теки, а овоцит может сохраняться длительное время.

Количество АФ на 2-е сутки опыта увеличивалось только после удаления маточных рогов и снижалось после удаления яйцеводов (+/- маточных рогов), подтверждая тем самым кратковременную стимуляцию роста фолликулов с одной стороны, неполноценность этого процесса – с другой. Бóльшая часть РФ после удаления маточных рогов или яйцеводов имела признаки дегенерации (см. выше). В группе животных с сочетанным удалением маточных рогов и яйцеводов указанный объём операции оказывался настолько критическим, что стимуляции роста фолликулов оказывалась ограниченной, происходило замедление фолликуло- и стероидогенеза уже со 2-х суток эксперимента.

Наряду с фолликулами в яичниках экспериментальных животных выявлялись ЖТ, количество которых варьировало в зависимости от объёма операции, однако оставалось в пределах референтного контроля. Качественно они находились на разных стадиях развития. Наличие постовуляторных ЖТ с характерными признаками свидетельствовало о сохранности овуляторной функции.

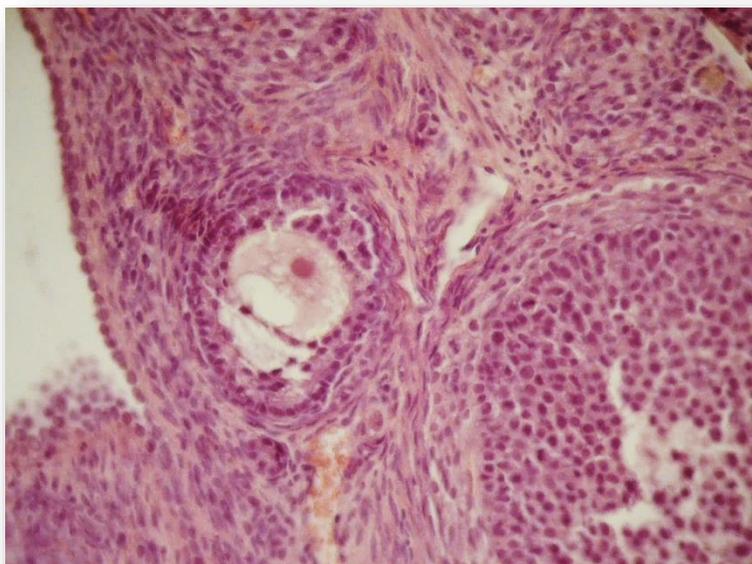


Рис. 3.3.2.9. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов (группа 1.2.1.1). Дегенеративные изменения во вторичном фолликуле: сморщивание ядра и отёк цитоплазмы овоцита, кариопикноз и дисконкомплексация клеток гранулёзы. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

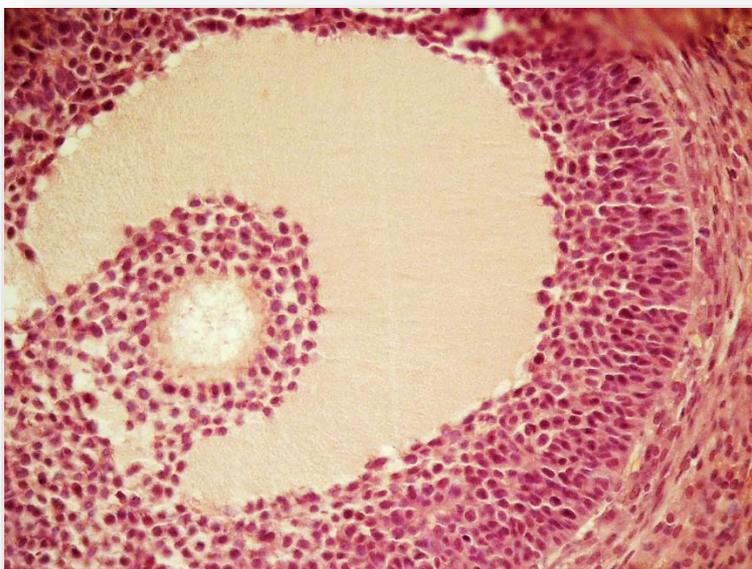


Рис. 3.3.2.10. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (группа 1.4.1.1). Дегенеративные изменения в третичном фолликуле: почти полный лизис овоцита, гиалинизация zona pellucida. Гипертрофия гранулёзы и внутреннего слоя теки. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

ЖТ имели округлую или овальную форму, снаружи покрыты соединительнотканной капсулой. Группы лютеоцитов, располагающихся радиально по отношению к центральной части ЖТ, были разделены тонкими прослойками, содержащими кровеносные и лимфатические сосуды. В некоторых случаях в центре ЖТ наблюдались резко расширенные кровеносные сосуды, просвет которых содержал агглютинированные эритроциты или тромбы. В процессе лютеинизации образовывались крупные клетки с округлым пузырькообразным ядром и вакуолизированной цитоплазмой. Обычно лютеинизация начиналась с эндокриноцитов теки, богатой сосудами, постепенно распространялась на периферические клетки зернистого слоя. Иногда лютеинизации подвергались лишь отдельные участки стенки антральных фолликулов. Однако чаще эти изменения отмечались на всем протяжении фолликулярной стенки (рис. 3.3.2.11). В отдельных фолликулах, наряду с лютеинизацией, наблюдались распад и десквамация части гранулезных клеток, непосредственно примыкающих к полости фолликула.

ПФ имели типичную структуру, располагались в строме коркового вещества в виде компактных групп. Изредка встречались одиночные ПФ, располагающиеся глубже поверхностной зоны коркового вещества (рис. 3.3.2.5). Количество ПФ на 2-е сутки варьировало в зависимости от объема оперативного воздействия, но в целом соответствовало таковому в контроле. Деструктивных изменений ПФ ни в одной из серий экспериментов выявлено не было.

Мозговое вещество яичников представлено рыхлой соединительной тканью, основными клеточными элементами которой являлись клетки фибробластического ряда. Также выявлялись тучные клетки, различные формы лейкоцитов и гладко-мышечные клетки.

Морфогенетические преобразования фолликулярного аппарата яичников сопровождалось высокодинамичными изменениями системы гемообеспечения. Смещение фолликулов из поверхностной зоны в глубокие слои коркового вещества по мере их развития предопределено высоким градиентом распределения кровеносных сосудов в яичнике, с преимущественной

локализацией в глубоких слоях коркового и мозговом веществе. Густая сосудистая сеть наблюдалась вокруг крупных фолликулов, так как рост и развитие фолликулов требовали хорошей васкуляризации. При этом, возможно, в инициации роста фолликулов значительную роль играл контакт ПФ с гемокапиллярами (рис. 3.3.2.5).

Динамичность сосудистого русла сохранялась и при дегенеративных изменениях фолликулов, однако показатели их васкуляризации оказывались значительно варьирующимися. Нарушение гемодинамики проявлялось резким расширением и полнокровием сосудов венозного типа и капилляров в корковом веществе (рис. 3.3.2.12). В локусах яичников с максимально выраженной деструкцией фолликулярного аппарата указанные изменения также выявлены и в сосудах мозгового вещества в виде стаза форменных элементов, краевого стояния лейкоцитов, миграции их через сосудистую стенку в строму. Отмечались очаги кровоизлияний в мозговом и корковом веществе.

На 10-е сутки после оперативного вмешательства в яичниках экспериментальных животных зоны контакта с электрическим воздействием характеризовались отёком, изменениями на тканевом и клеточном уровнях. Различные типы тканей в указанных областях часто не имели привычной архитектоники, размеров и расположения клеточных элементов. В большом количестве выявлялись малодифференцированные клетки. Также обнаруживались фокусы грануляционной ткани, содержащей тонкие коллагеновые волокна, гипертрофированные фибробласты, гистиоциты, плазмоциты и полиморфноядерные лейкоциты.

По мере увеличения срока опыта отмечалось стихание воспалительного процесса, однако сосудистая реакция сохранялась. Типичными патологическими проявлениями нарушения реологических свойств крови в сосудах яичников являлись стаз, сладж и тромбоз. Данные изменения, как правило, затрагивали сосуды венозного типа, носили достаточно распространённый характер, одинаково часто обнаруживались в корковом и мозговом веществе (рис. 3.3.2.13). Обширных кровоизлияний практически не встречалось.

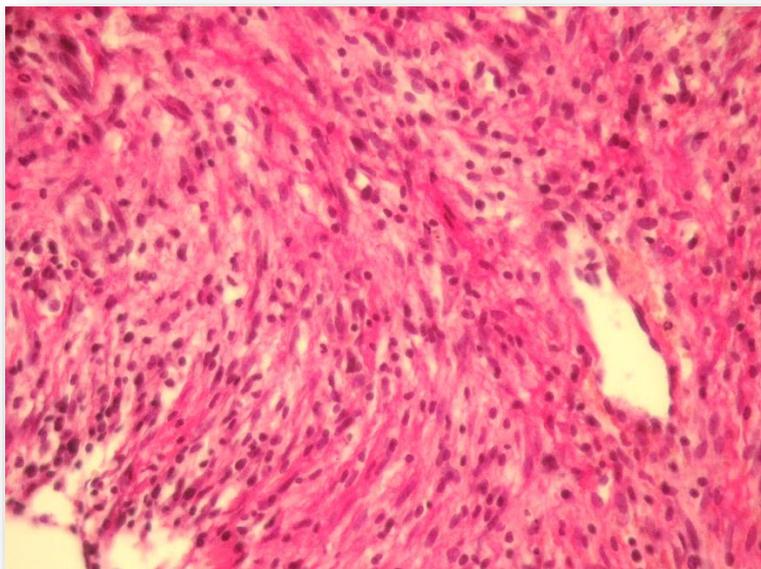


Рис. 3.3.2.11. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.1). Лютеинизация фолликулярной стенки. Окраска по Ван Гизону. Увел. 400.

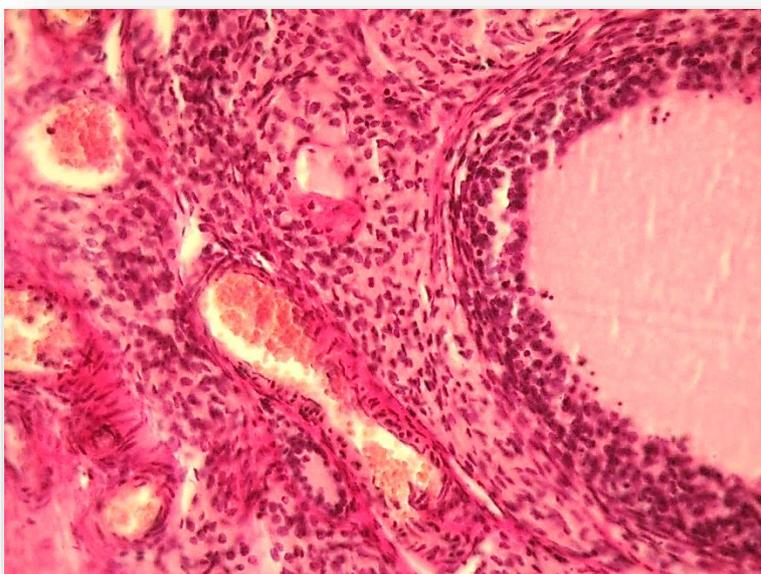


Рис. 3.3.2.12. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (группа 1.4.1.1). Гиперемия артериол коркового вещества. Окраска по Ван Гизону. Увел. 400.

В перифокальных зонах коркового вещества и мозговом веществе кровеносные сосуды часто были расширены, гиперемированы. Обнаруживались дефекты сосудистой стенки: эндотелий повреждён и / или десквамирован. Тромбы мелких сосудов закупоривающие, полностью перекрывали просвет, в венах состояли из эритроцитов и тромбоцитов (красные), артериолах – лейкоцитов и тромбоцитов (белые). Периваскулярная соединительная ткань характеризовалась отёком. Реже, чем в предыдущие сроки опыта содержала клеточные инфильтраты, иногда мелкие кровоизлияния. Примечательно, что гемодинамические изменения носили универсальный характер, обнаруживались вне зависимости от объёма оперативного вмешательства, однако чаще после ЭХ коагуляции яйцеводов (+/- маточных рогов). Указанные объёмы оперативного воздействия, вероятно, в бóльшей степени нарушали тесную анатомическую ассоциацию кровоснабжения придатков матки и маточных рогов – области анастомозов яичниковой и маточной ветви яичниковой артерии.

Среди генеративных элементов в указанном сроке опыта встречались РФ на стадии ПРФ и ВРФ, реже ТРФ имеющие обычное строение. Нарушение гистогематического барьера, ишемия генеративного аппарата яичников неизбежно сопровождалась дегенеративными изменениями РФ. Основными проявлениями являлись кариорексис, дисконплексація эпителиоцитов, кариопикноз или распад овоцита, отёк и гомогенизация ооплазмы. Наряду с клеточными деструктивными изменениями ПРФ выявлялись также нарушения более зрелых фолликулов (рис. 3.3.2.14). Часть из них подвергалась преждевременной лютеинизации, которая, как правило, охватывала всю фолликулярную стенку, распространяясь от эндокриноцитов теки на фолликулярные эпителиоциты (рис. 3.3.2.14).

Наряду с вышеописанными изменениями также выявлялись локусы стромальной гиперплазии (текоматоза). В строме появлялись очаги гипертрофированных клеток вне связи с фолликулами. По аналогии с СПКЯ наблюдалось утолщение белочной оболочки, однако процесс формирования ЖТ сохранялся (рис. 3.3.2.15).

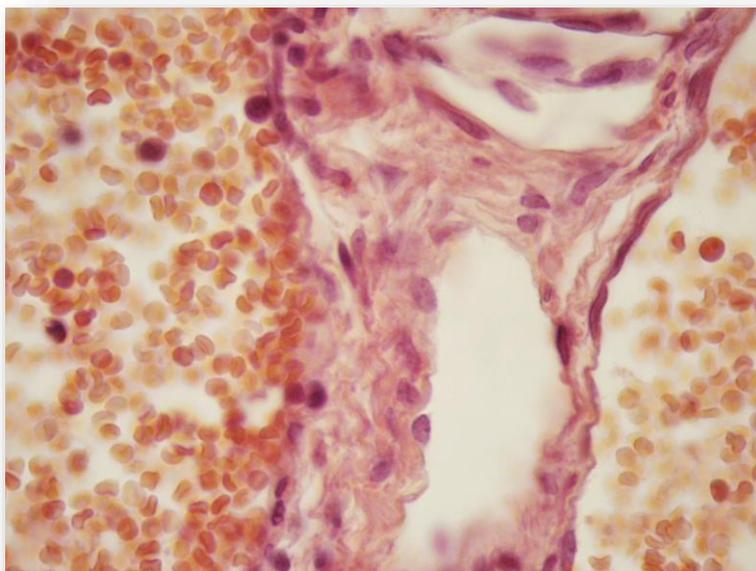


Рис. 3.3.2.13. Фрагмент мозгового вещества яичника крысы на 10-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.2). Сдвиг форменных элементов, краевое стояние лейкоцитов, выход единичных лейкоцитов из сосудов. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

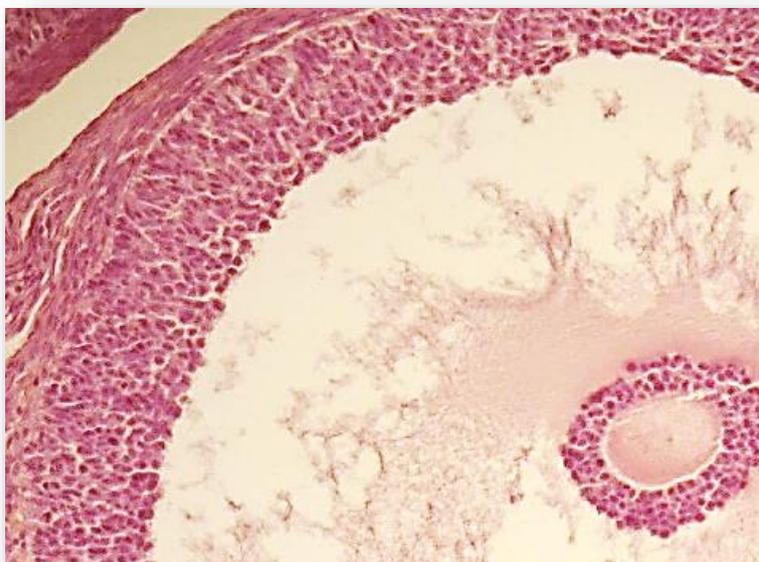


Рис. 3.3.2.14. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 10-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.2). Преждевременная лютеинизация третичного фолликула, дисконкомплексация клеток гранулёзы. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

Морфоколичественная динамика после удаления маточных рогов и /или яйцеводов была схожей с таковой после непосредственной ЭХ коагуляции яичников. Общее количество фолликулов, находящихся на разных стадиях развития, в том числе атретических оказывалось сниженным. Более того, замедление процессов роста отмечалось также в группах, где ранее (на 2-е сутки) выявлялась кратковременная стимуляция фолликулов – после удаления яйцеводов (в меньшей степени после удаления маточных рогов). Критическим также оказывалось снижение количества ПФ после удаления яйцеводов (+/- маточных рогов) по сравнению с контролем. Чаше чем в предыдущие сроки опыта и контроле обнаруживались одиночные ПФ. Признаков дегенерации в них выявлено не было. Изолированное ЭХ удаление маточных рогов как правило не приводило к изменению количества и расположения ПФ.

Поверхностный эпителий трансформировался в призматический, в большинстве срезов формировал небольшие по протяженности участки пролиферации, образуя несколько рядов (рис. 3.3.2.16). Эти изменения наблюдались независимо от дальнейших сроков эксперимента, объема оперативного вмешательства, как правило над ЖТ, а также воспалительно измененными участками коркового вещества.

Количество ЖТ оставалось на уровне значения контрольной группы, что, вероятно, обусловлено преждевременной лютеинизацией фолликулов на фоне замедления их роста. ЖТ имели неправильную форму, неравномерное расположение, в некоторых встречались кровоизлияния.

На 30-60-е сутки после оперативного вмешательства в яичниках экспериментальных животных в зонах, контактирующих с ЭХ воздействием формировались соединительнотканые небольшие рубцы, содержащие толстые коллагеновые волокна. В перифокальных областях снижалась интенсивность эмиграции форменных элементов крови, количество лейкоцитов, активно выявлялись макрофаги гематогенного происхождения, интенсифицировалась развитие фибробластов. В отдельных полях зрения отмечалась пролиферация эндотелиоцитов и неоангиогенез.

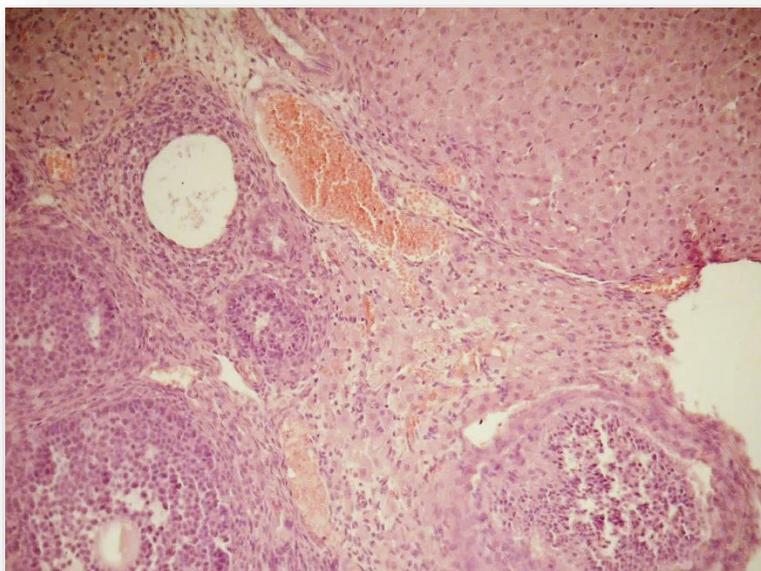


Рис. 3.3.2.15.Фрагмент яичника крысы на 10-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов (группа 1.2.1.2). Стромальный текоматоз. Тромбоз сосудов. Дегенеративные изменения фолликулов. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

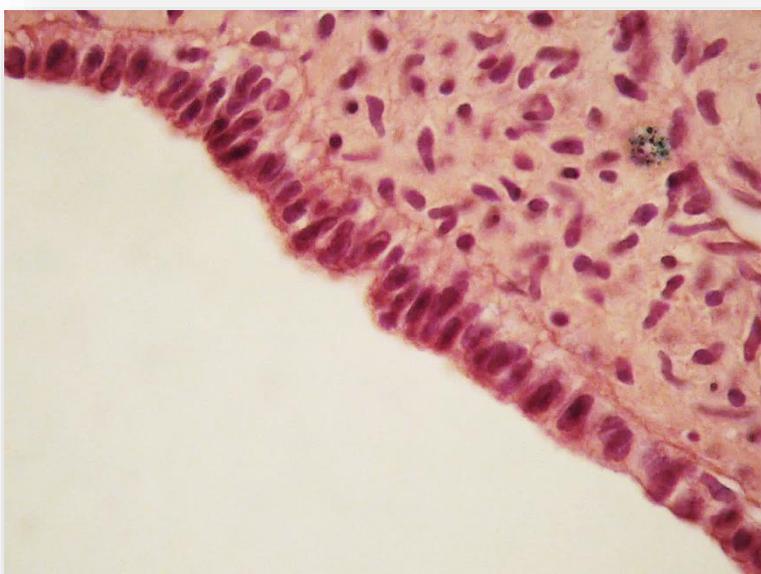


Рис. 3.3.2.16.Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 10-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.2). Трансформация поверхностного эпителия, утолщение белочной оболочки. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

Поверхностный эпителий имел обычное строение, а белочная оболочка оказывалась локально утолщенной (рис. 3.3.2.17). Данные изменения встречались прежде всего у животных после ЭХ коагуляции яйцеводов (+/- маточных рогов).

По сравнению с предыдущими сроками опыта сосудистая реакция несколько ослабевала, а к 60-м суткам практически не выявлялась. Как правило, нарушения гемодинамики встречались в сосудах мозгового вещества. Отмечалось умеренное полнокровие венозного русла, стаз форменных элементов, краевое стояние лейкоцитов (рис. 3.3.2.18). На 30-е сутки после ЭХ коагуляции яйцеводов (+/- маточных рогов) указанные морфологические изменения сосудов имели место и в корковом веществе.

По аналогии с группой экспериментальных животных, которым производилась электрокоагуляция гонад, после ЭХ коагуляции маточных рогов и/или яйцеводов, начиная с 30-х суток опыта, инициировалась кистозная трансформация фолликулов. В паренхиме коркового вещества обнаруживались группы атретических тел и ретенционные кисты различной величины (рис. 3.3.2.19). Кисты формировались как из АФ, так и РФ, имели большие размеры, занимали значительную площадь среза, что, вероятно, обуславливало отсутствие значимых изменений объёма гонад на 60-е сутки по сравнению с таковыми в контроле и в ранние сроки опыта. Полости содержали гомогенный эозинофильный бледно окрашивающийся секрет, не отличимый от такового в ТРФ. Ретенционные образования представляли собой тонкостенные полости с ровными четкими краями. Стенки кист были представлены несколькими слоями тесно расположенных фолликулярных клеток без признаков дегенерации или с таковыми, уплощёнными веретенообразными клетками теки. Овоциты в кистозных полостях не определялись (рис. 3.3.2.20). Вероятно, полная дегенерация и цитоллиз овоцитов предшествовали значительному накоплению жидкости в кисте и изменениям, происходящим в стенке кисты.

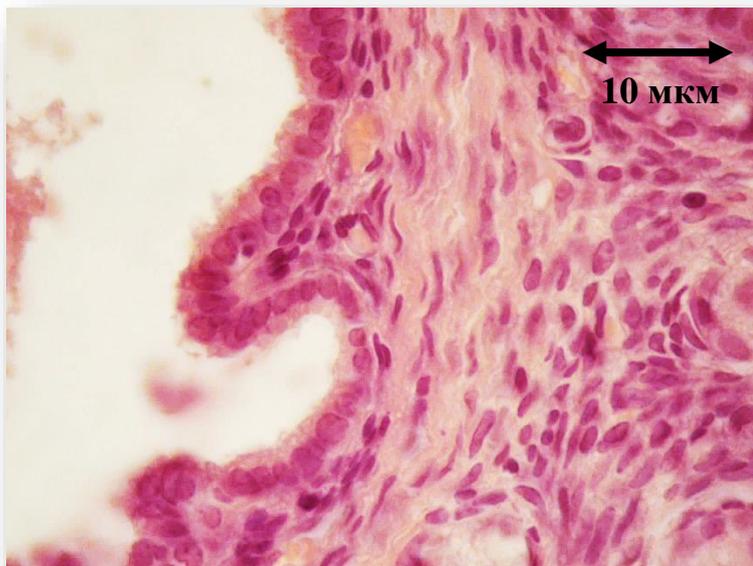


Рис. 3.3.2.17.Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.3). Утолщение белочной оболочки. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

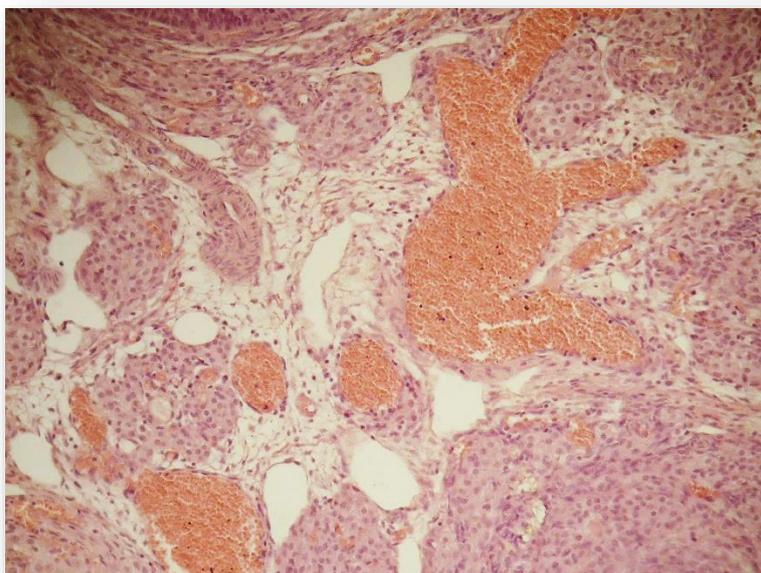


Рис. 3.3.2.18.Фрагмент мозгового вещества яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов (группа 1.2.1.3). Полнокровие венозного русла, стаз форменных элементов. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

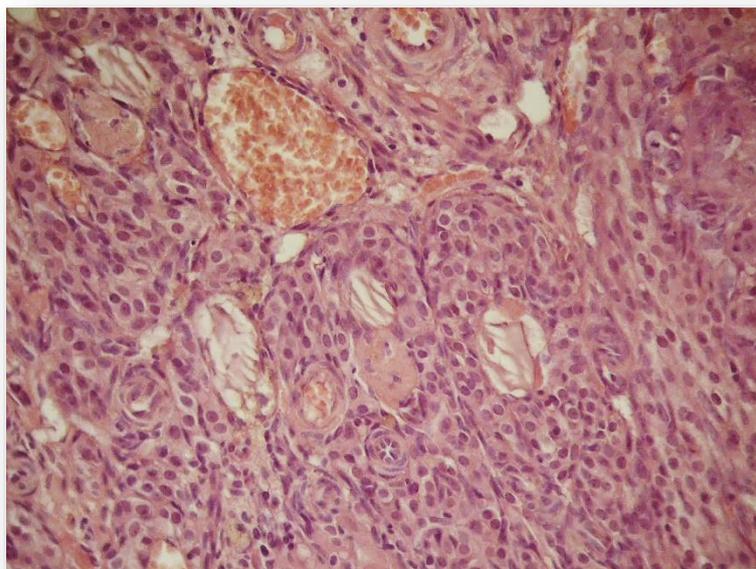


Рис. 3.3.2.19. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов (группа 1.2.1.5). Локальное скопление атретических тел. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

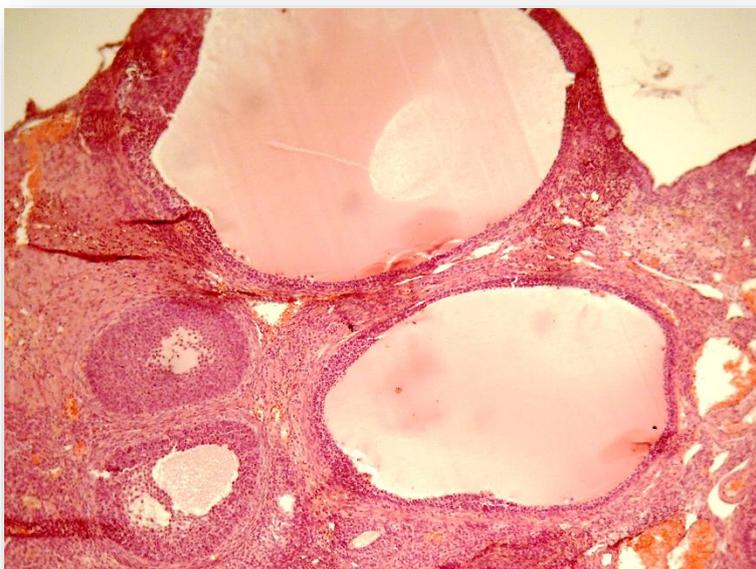


Рис. 3.3.2.20. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (группа 1.4.1.5). Ретенционные кисты больших размеров. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 200.

Помимо указанных фолликулярных кист обнаруживались кисты с лютеинизированной стенкой, как правило, после изолированного удаления маточных рогов. Обычно лютеинизация начиналась с текоцитов. Внутренний слой теки утолщался, клетки значительно увеличивались в размерах, ядра набухали, приобретали округлую форму и становились светлыми; цитоплазма клеток подвергалась вакуолизации. Апикальные клетки гранулёзы имели полигональную, округлую или овальную форму, париетальные – уплощены. Ядра эпителиоцитов были несколько более компактными, чем в норме, вокруг располагался узкий ободок слабо базофильной цитоплазмы. Иногда лютеинизации подвергались лишь отдельные участки стенки кисты, и тогда киста имела смешанное строение. Однако чаще эти изменения отмечались на всем протяжении ее стенки (рис. 3.3.2.21). В части кист имело место выселение мононуклеаров в фолликулярную полость. Вышеописанная морфологическая картина косвенно могла свидетельствовать о стероидной активности кист, а обнаружение их прежде всего у животных с удалёнными маточными рогами – о более сохранной гормональной функции у подопытных этой группы.

В некоторых кистах наблюдались распад и десквамация части гранулезных клеток, непосредственно примыкающих к полости кисты, локальные дефекты стенки (рис. 3.3.2.22). Дальнейшая эволюция таких кист сводилась к процессам дегенерации и атрофии, вследствие чего толщина стенки прогрессивно уменьшалась, и они превращались кисты, лишённые своих специфических секреторных элементов – гранулёзы и теки, вследствие чего могли соответствовать кистам, лишённым стероидной активности. Дегенеративные изменения в фолликулярных кистах сводились к вакуолизации цитоплазмы, пикнозу или рексису ядер эпителиоцитов и слущиванию клеток в просвет кисты. Толщина атрофичной гранулёзы уменьшалась до 1-2 рядов, и при её полном исчезновении киста превращалась в ретенционную полость значительного размера, растянутую гомогенным веществом и выстланную несколькими рядами ламинарных морфологически неразличимых клеток (рис. 3.3.2.23).

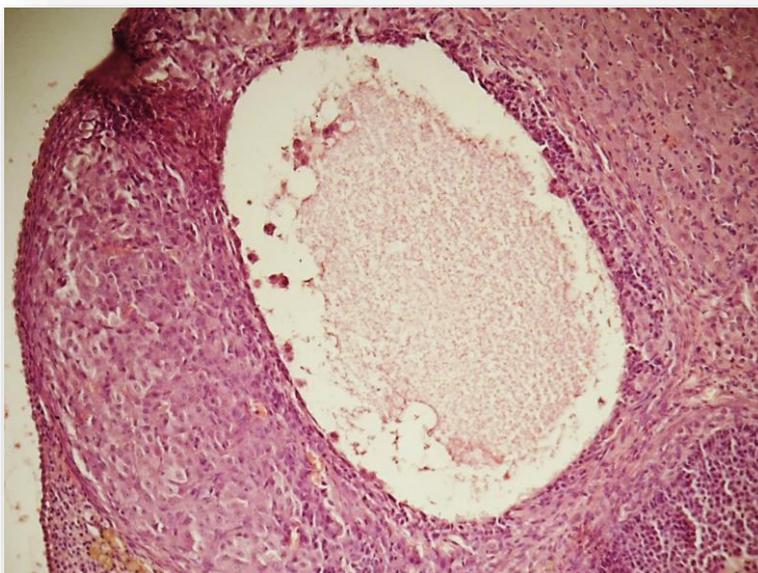


Рис. 3.3.2.21. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов (группа 1.3.5). Фолликулярная киста с лютеинизированной стенкой. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

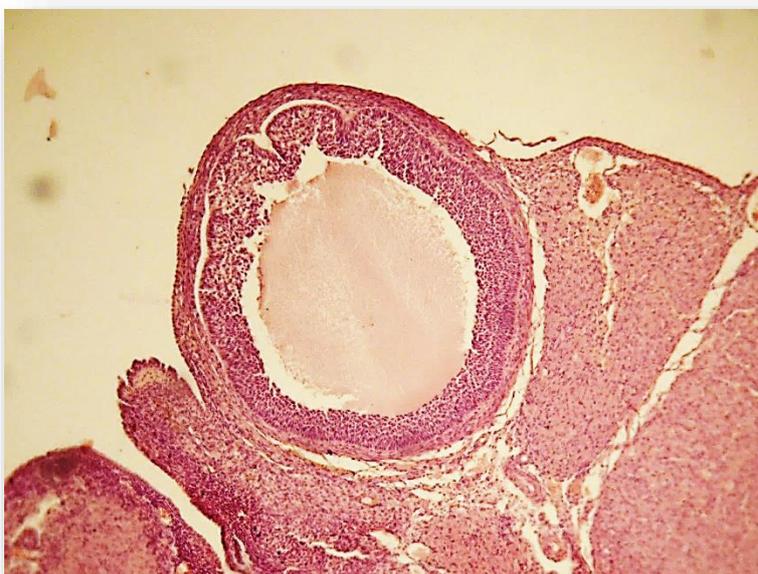


Рис. 3.3.2.22. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.3). Фолликулярная киста с дегенеративными изменениями клеток гранулёзы, локальные дефекты стенки. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 200.

Содержание генеративных элементов было ещё более сниженным по сравнению с таковым в предыдущие сроки эксперимента. В корковом веществе обнаруживались ПФ, РФ, часть из которых имели обычное строение. Низким оказывалось количество ПФ после удаления яйцеводов, критически сниженным – после удаления яйцеводов и маточных рогов. Редко визуализировались фолликулы, достигшие предовуляторной стадии. Дегенеративные изменения РФ включали деструкцию зернистого слоя, конденсацию хроматина, кариопикноз, дисконплексацію клеток гранулёзы, оворексис (рис. 3.3.2.24). Как и в предыдущие сроки эксперимента, но в большей степени визуализировались фолликулы с преждевременной лютеинизацией стенки, в корковом веществе – участки текоматоза и гиперплазии фиброзной ткани.

Содержание ЖТ оказывалось весьма умеренным. ЖТ имели неправильную форму и небольшие размеры. Снижение их количества наблюдалось прежде всего в группе животных после удаления яйцеводов (+/- маточных рогов). Морфологическая картина в целом на 30-60 сутки опыта оказывалась характерной для хронической ановуляции, наиболее выраженные изменения встречались при одномоментном удалении маточных рогов и яйцеводов.

Таким образом, удаление маточных рогов и яйцеводов у крыс изменяет структурно-функциональную организацию гонад. Степень выраженности морфологических изменений определяется объемом операции, наибольшее повреждение определяется после сочетанного удаления маточных рогов и яйцеводов. При вторичной ОН обнаруживаются гемодинамические нарушения, инициация ПФ и стимуляция роста в ранние сроки опыта. Однако в дальнейшем фолликулогенез ограничен количественно и качественно. Фолликулярный рост и атрезия замедляются, фолликулы подвергаются преждевременной лютеинизации и кистозной трансформации, формируется хроническая ановуляция. Исходом являются фиброзная атрофия яичников и уменьшение их объёма в отдаленные сроки.

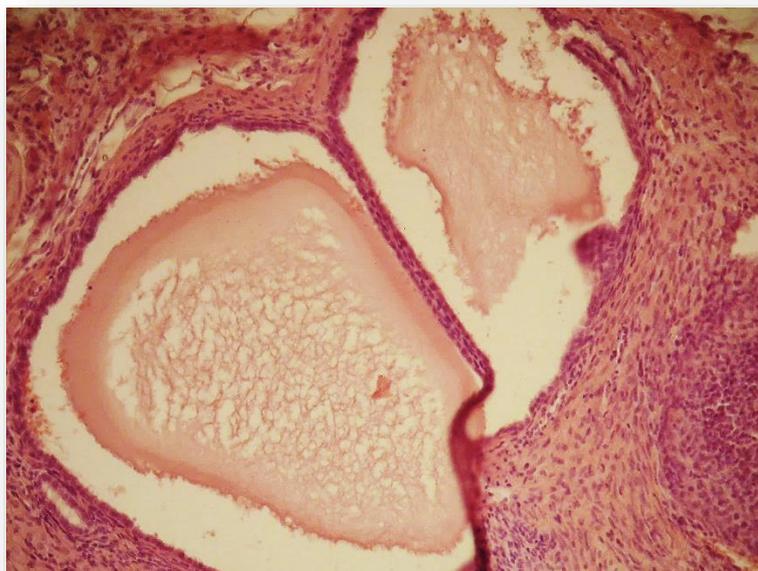


Рис. 3.3.2.23. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.3). Ретенционные кисты, лишённые гормональной активности. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

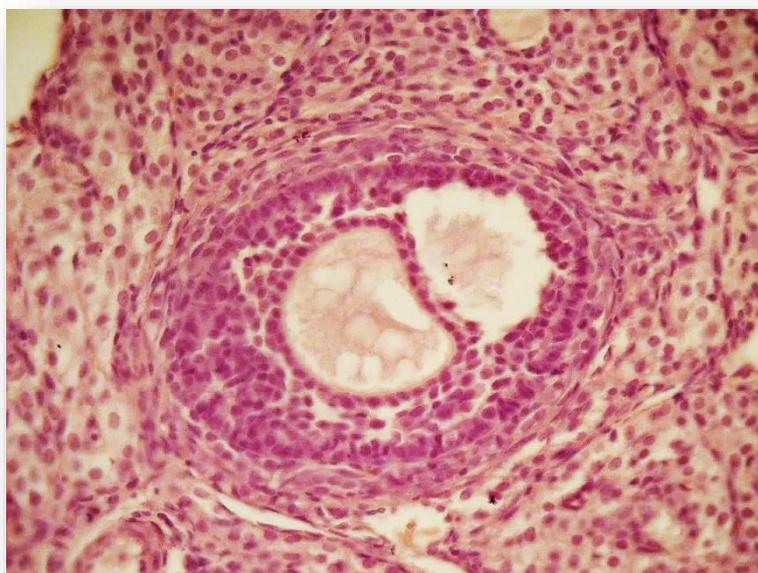


Рис. 3.3.2.24. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления яйцеводов (группа 1.3.3). Вторичный фолликул с дегенеративными изменениями: внутрифолликулярный отёк, дисконкомплексация клеток гранулёзы, кариопикноз. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

3.3.3. Морфофункциональное состояние яичников с моделью электрохирургического удаления маточных рогов и яйцеводов и после применения дегидроэпиандростерона

При гистологическом исследовании яичников с моделью ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после 28-дневного применения ДГЭА были выявлены изменения по срокам аналогичные таковым без применения ДГЭА, однако степень их выраженности значительно варьировала, и, вместе с тем, имелись некоторые особенности.

На 30-е сутки после операции и применения ДГЭА в яичниках подопытных животных на первый план выступали признаки активного фолликулогенеза, проявляющиеся увеличением количества всех форм РФ, ПФ, замедлением атрезии, а также изменения стромального компонента. Выявленные морфологические изменения протекали в несколько этапов, косвенно указывали на восстановление функции гонад.

На большей части поверхность яичников покрыта уплощённым поверхностным эпителием, частично – однослойным кубическим эпителием (рис. 3.3.3.1). По аналогии с 10-30-ми сутками опыта у животных без применения ДГЭА выявлены участки метаплазии поверхностного эпителия с формированием столбчатых структур, нарушением рядности / слоя клеток. Белочная оболочка образована волокнистой соединительной тканью, на участках перифокальных зон воздействия была утолщена.

Сосудистая реакция несколько ослабевала. Гемодинамические изменения обнаруживались, как правило, в мозговом веществе, характеризовались полнокровием венозного русла, стазом форменных элементов (рис. 3.3.3.2). Эндотелий нередко имел дефекты, в адвентиции сосудов отмечалась пролиферация соединительной ткани. Стенки отдельных гемокапилляров подвергались гомогенизации и склеротическим изменениям. Однако в целом выраженность гемодинамических изменений оказывалась меньшей по сравнению с таковой у крыс после операции без применения прогормона.

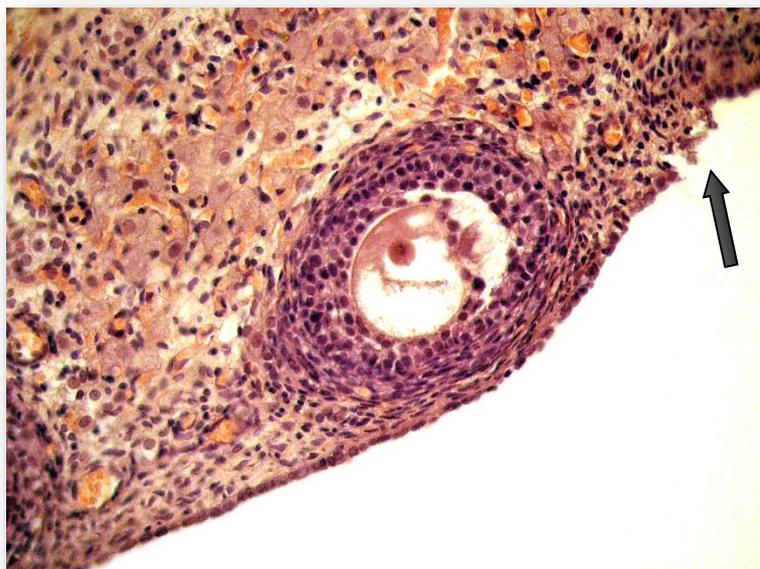


Рис. 3.3.3.1. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.3). Вторичный фолликул с дегенеративными изменениями. Локальный дефект поверхностного эпителия (чёрная стрелка), утолщение белочной оболочки. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

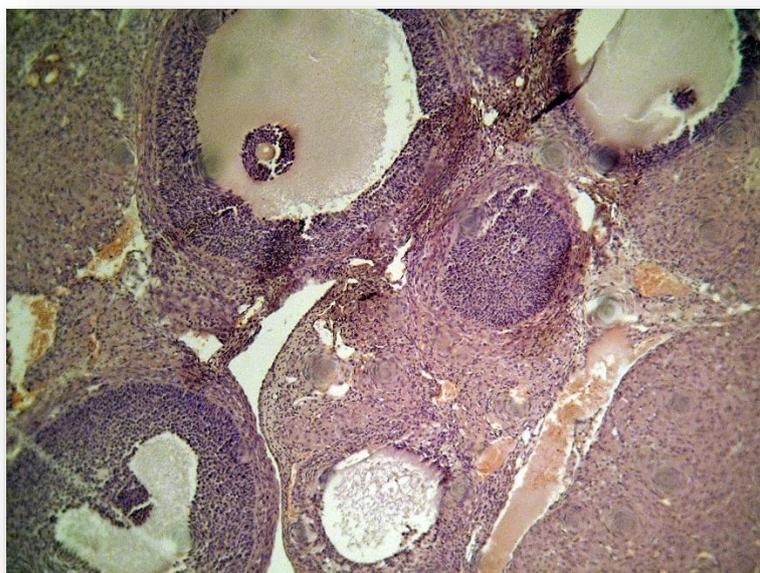


Рис. 3.3.3.2. Фрагмент яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.3). Нарушение гемодинамики в сосудах мозгового вещества. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 100.

Корковое вещество представлено фолликулами различной степени зрелости, ЖТ, соединительной тканью. Отмечалось менее выраженное преобладание стромального компонента над фолликулярным аппаратом, в сравнении с другими сериями.

ПФ располагались под белочной оболочкой чаще группами, реже одиночно, имели обычную структуру (рис. 3.3.3.3). Их количество, несмотря на проведённый объём оперативного лечения (удаление маточных рогов и яйцеводов), оказывалось значительно большим по сравнению с таковым в группах без применения ДГЭА и контроля.

Андроген-индуцированный метаморфоз гонад проявлялся прежде всего количественными и качественными изменениями процесса фолликулогенеза. В первые сутки после окончания применения ДГЭА количество РФ оказывалось выше, а АФ – ниже таковых у животных только после операции. Однако структура различных форм фолликулов имела существенные отличия по сравнению с таковой в контроле. АФ встречались в единичных случаях, располагались одиночно. Процесс атрезии захватывал, как правило, ТРФ. Изменений гемодинамики в регионах яичников, где регистрировались АФ, в отличии от серий экспериментов без использования ДГЭА, выявлено не было. Также отсутствовали изменения конфигурации фолликулов, гипертрофия гранулёзы, свойственные атрезии крупных фолликулов предыдущих серий.

Вместе с этим, атрезия антральных фолликулов сопровождался субтотальной дегенерацией фолликулярного эпителия, полным разрушением прозрачной оболочки, выраженной гипертрофией внутреннего слоя теки. Изменения также захватывали овоцит. Последний находился в свободном состоянии, не имела связи с клетками гранулёзы, форма была неправильной, отмечалась гиперхромность и фрагментация ядра, вакуолизация цитоплазмы.

Инициация ПФ, вероятно, начавшаяся раньше, приводила к увеличению прежде всего ПРФ. Фолликулы, только вступившие в рост, располагались одиночно, периферийно вблизи сосудов, имели типичные размеры и форму. Дегенеративных изменений, как правило, не наблюдалось (рис. 3.3.3.4).



Рис. 3.3.3.3. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 40-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.4). Группа примордиальных фолликулов. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

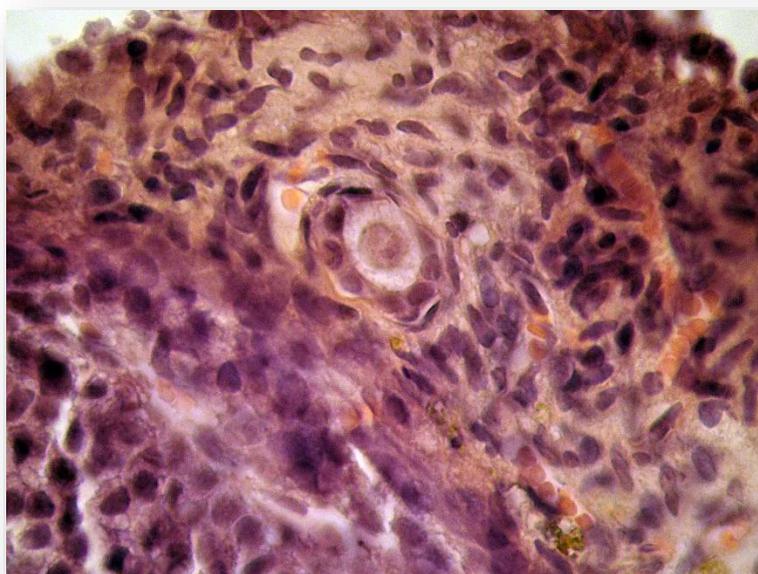


Рис. 3.3.3.4. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.3). Первичный фолликул. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

Более зрелые РФ встречались в глубоких зонах коркового вещества. Форма была правильная, структура в большинстве типичная: сохранный овоцит с ядрышком, выраженные слои гранулёзы и теки (рис. 3.3.3.5). Часто визуализировались зрелые фолликулы (рис. 3.3.3.6). Несмотря на это количество ЖТ оставалось неизменным. ЖТ имели округлую форму и переменные размеры, находились на разных стадиях развития: васкуляризации, железистого превращения, расцвета и обратного развития. Начальные стадии гистогенеза ЖТ встречались чаще, что в совокупности с увеличением количества зрелых фолликулов, свидетельствовало о завершённости фолликулогенеза, и, прежде всего, о сохранной овуляторной функции (рис. 3.3.3.7).

Ещё одной особенностью гистологического строения гонад на 30-40-е сутки после оперативного лечения и применения ДГЭА являлись гиперплазия теки и стромальный текоматоз (рис. 3.3.3.8-9). В строме коркового вещества яичников вследствие усиленной пролиферации эндокриноцитов наблюдались явления стромальной гиперплазии. Чаще встречалась диффузная форма гиперплазии с распространением на мозговое вещество, реже – очаговая форма. Эндокриноциты имели сходство с клетками внутреннего слоя теки, обнаруживались многочисленные липидные вакуоли. Клетки располагались поодиночке или небольшими группами, преимущественно вокруг мелких кровеносных сосудов, формировали очаги текоматоза различной величины и формы. Форма эндокриноцитов округлая или полигональная, цитоплазма «пенистая», ядро большое пузыревидное в центре клетке.

Несмотря на начавшийся восстановительный процесс в ранние сроки после окончания применения ДГЭА, уже с 40-х суток опыта структурный гомеостаз яичников оказывался нарушенным. Общее количество РФ и АФ оказывалось ниже такового у животных только после оперативного лечения, а также контроля в среднем на 30-40%. В корковом веществе, как правило, обнаруживались многочисленные ПФ и РФ на разных стадиях созревания. Последние на ранних этапах развития подвергались кистозной, а затем – фиброзной атрезии с атрофической или гиперплазированной theca interna.

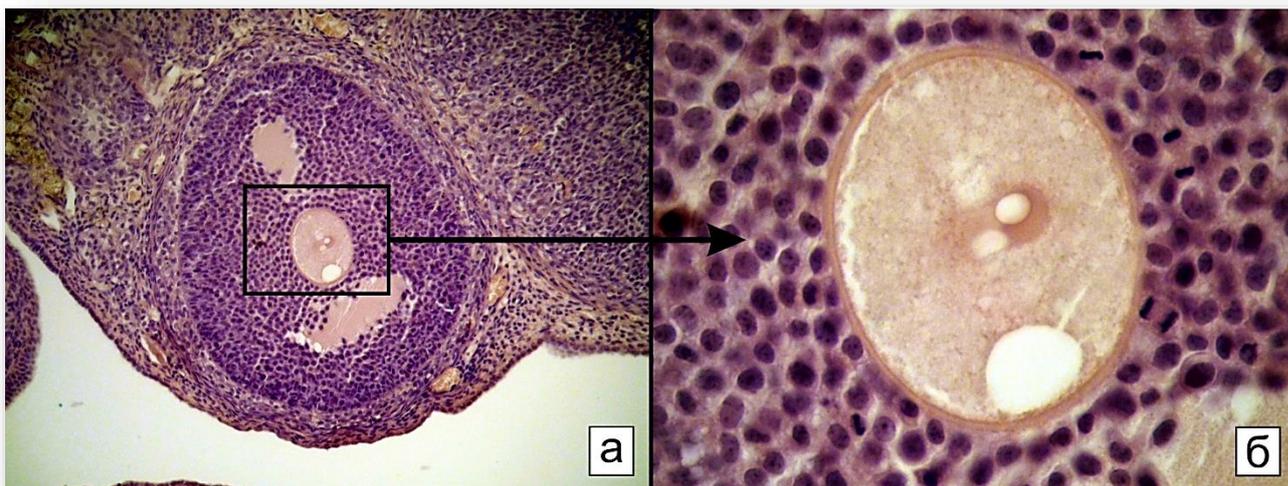


Рис. 3.3.3.5. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 40-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.4). Вторичный фолликул. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. а – 200, б – 1000.

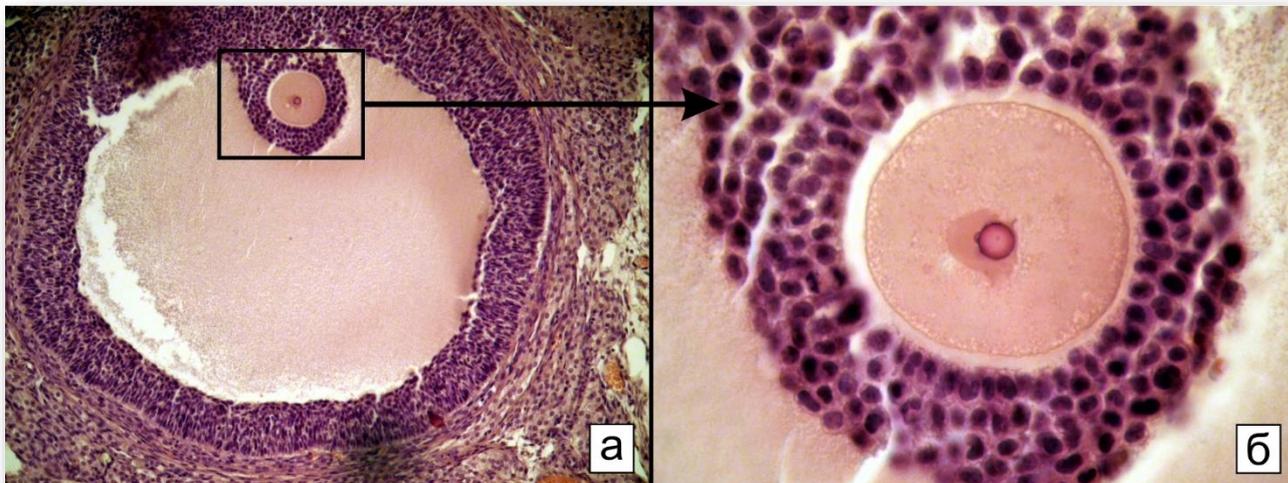


Рис. 3.3.3.6. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.3). Третичный фолликул. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. а – 200, б – 1000.

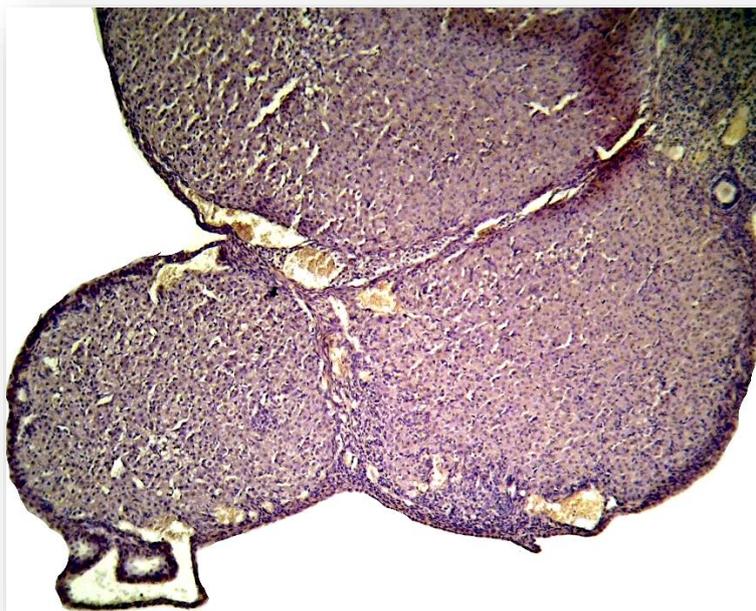


Рис. 3.3.3.7. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 40-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.4). Жёлтые тела в стадии расцвета. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 100.

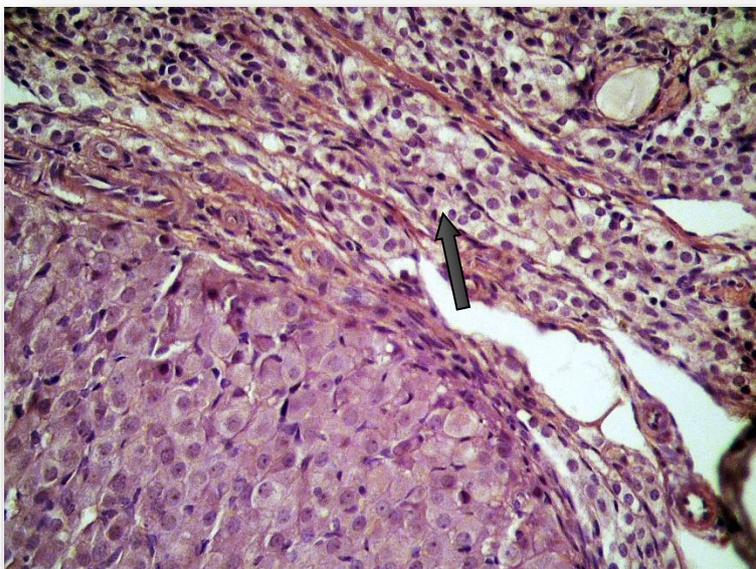


Рис. 3.3.3.8. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.3). Стромальный текоматоз (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

Стимулирующий эффект ДГЭА на фолликулогенез на 40-е сутки сохранялся, однако рост фолликулов оказывался дефектным. На этом фоне небезынтересным являлось увеличение количества ЖТ, что, вероятно, связано с завершающим этапом фолликулярного развития ТРФ, обнаруживаемых в большом количестве на 30-е сутки опыта и имеющих нормальное морфологическое строение. В подтверждение вышесказанного обнаруживались ЖТ обычной формы и вида, как правило, в стадии обратного развития (рис. 3.3.3.10).

Количество АФ на 40-е сутки эксперимента практически не менялось по отношению к предыдущей точке опыта (оставалось ниже контроля), что косвенно могло указывать на положительный эффект ДГЭА на фолликулогенез. Однако, учитывая тот факт, что общее количество генеративных элементов (в первую очередь фолликулов ранних этапов фолликулярного роста) в яичниках крыс после применения предшественника андрогенов значительно снижалось, свидетельствовало о вторичной ОН ятрогенного происхождения. Положительный эффект ДГЭА к 40-м суткам опыта полностью нивелировался. Помимо структурных и количественных изменений, начиная с 40-х суток опыта, обнаруживались морфологические отличия процесса атрезии. По сравнению с 30-и сутками эксперимента, а также другими сериями были выявлены дегенеративные изменения фолликулов на всех стадиях развития.

Процесс атрезии ПФ протекал со слабо выраженными морфологическими изменениями, поэтому о завершении атрезии этих фолликулов можно было судить только по разрушению структур овоцита (рис. 3.3.3.11).

Среди РФ процессу атрезии подвергались в первую очередь фолликулы, только вступившие в рост и преантральные (рис. 3.3.3.12). В указанных регионах гонад также выявлены изменения гемодинамики в виде стаза и сладжа форменных элементов (рис. 3.3.3.13). АФ располагались группами. Атрезия овоцитов начиналась с лизиса органелл, кортикальных гранул и сморщивания ядра. При этом прозрачная оболочка утрачивала свою округлую форму, становилась складчатой, утолщалась и гиалинизировалась.

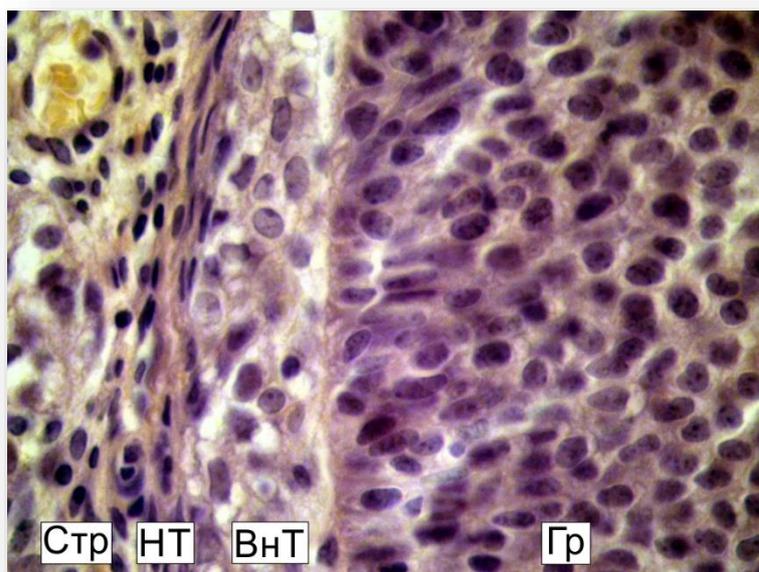


Рис. 3.3.3.9. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 40-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.4). Гиперплазия внутреннего слоя теки (ВнТ). Стр – строма, НТ – наружная тека, Гр – гранулёза. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

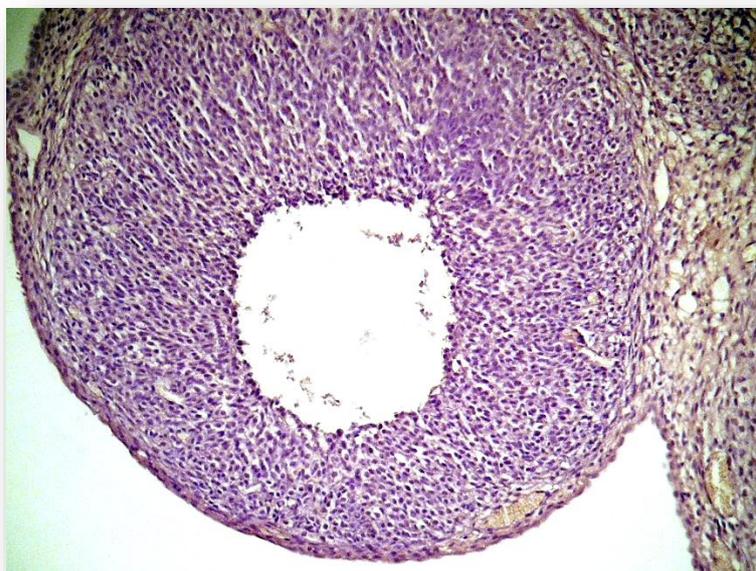


Рис. 3.3.3.10. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 40-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.4). Кистозное желтое тело на начальных этапах обратного развития. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 200.

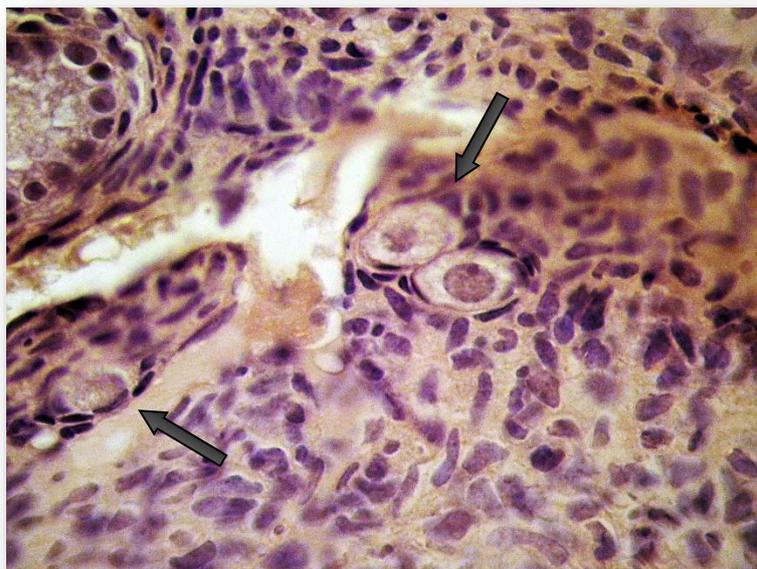


Рис. 3.3.3.11. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 40-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.4). Группа примордиальных фолликулов, с дегенеративными изменениями (стрелки). Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

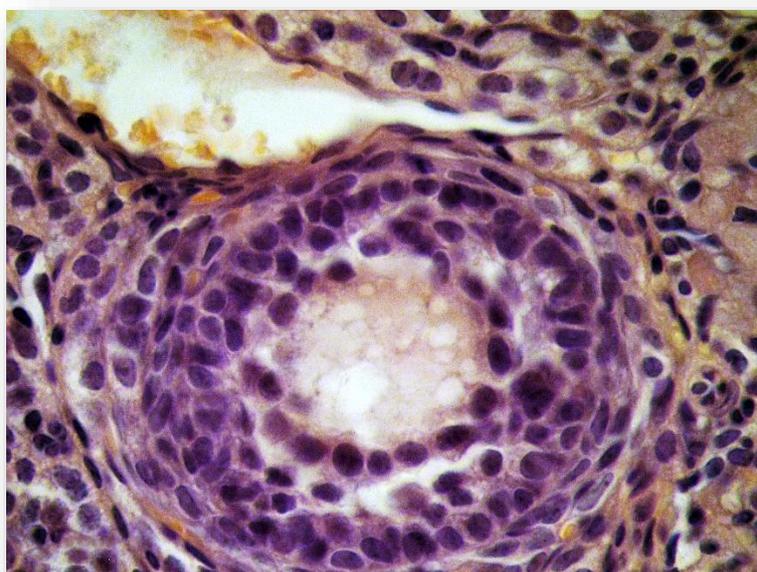


Рис. 3.3.3.12. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 40-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.4). Первичный фолликул: дисконфлексация эпителиоцитов гранулёзы, полный цитоллиз овоцита. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

Атрофии были также подвержены фолликулярные клетки. Сначала обнаруживалась дисконкомплексация зернистого слоя, в дальнейшем происходила полная эксфолиация гранулёзного слоя. Эндокриноциты теки сохраняли прежние размеры и ядерно-цитоплазматическое соотношение, базальная мембрана гиалинизировалась и утолщалась. Для крупных антральных фолликулов характерным оказывался другой морфогенетический вариант атрезии, сопровождавшийся гипертрофией обеих фолликулярных оболочек. Образовавшиеся в результате этого клетки напоминали по форме и виду лютеиновые клетки ЖТ в стадии расцвета, но отличались от последнего наличием в центре прозрачной оболочки овоцита (рис. 3.3.3.14).

Наши исследования показали, что при гистологическом исследовании первые признаки атрезии в фолликулах крыс регистрировались как в фолликулярном эпителии и клетках теки, так и в овоците. Не исключено, что инициация атретического процесса в фолликуле начиналась именно с овоцита, а затем распространялась на окружающие соматические компоненты – фолликулярный эпителии и теку. Не редко световая микроскопия не позволяла выявить трудноуловимые изменения в структуре овоцита на начальном этапе атрезии, при этом структура окружающих его клеток изменялась более динамично и наглядно. Дальнейшие разделы работы (морфоколичественный анализ, иммуногистохимическое исследование) по изучению молекулярных основ фолликулогенеза позволили более полно установить роль взаимодействия овоцита и соматических клеток окружения в регуляции репродуктивной функции после оперативного вмешательства на ОМТ.

Исходом атретического процесса в гонадах крыс после применения ДГЭА на 40-60-е сутки опыта оказывались образование соединительнотканного рубца, что указывало на облитерирующую атрезиию и/или образование фолликулярных кист (рис. 3.3.3.15), если количество фолликулярной жидкости увеличивалось и последняя не всасывалась.

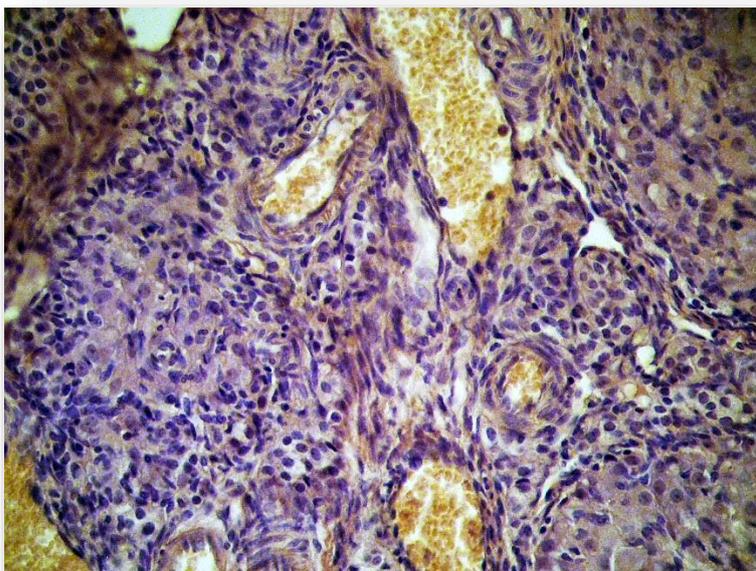


Рис. 3.3.3.13. Фрагмент яичника крысы на 40-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.4). Гемодинамические изменения. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

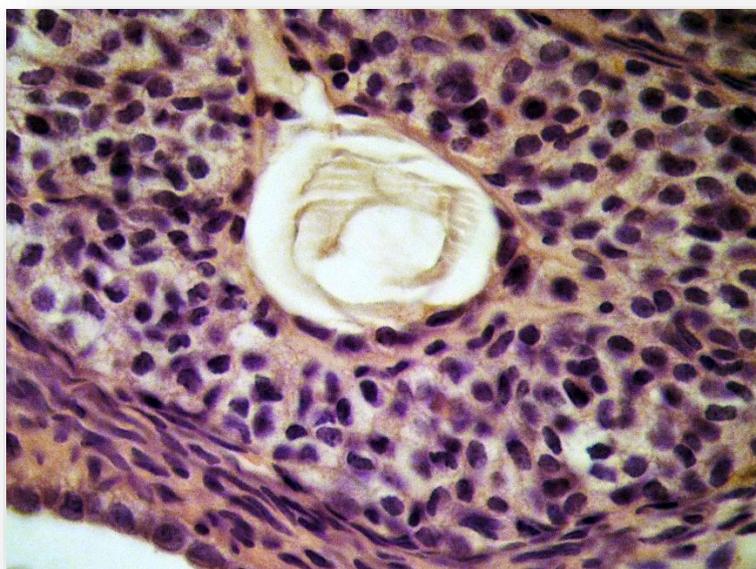


Рис. 3.3.3.14. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 40-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.4). Атретическое тело. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.

На 60-е сутки опыта основными отличительными особенностями андроген-индуцированного метаморфоза яичников оказывались дефектный фолликулогенез, кистообразование и увеличение стромального компонента, в целом мало отличимые от таковых у животных после операции без применения ДГЭА.

Поверхность яичников покрыта кубическим, реже призматическим поверхностным эпителием (рис. 3.3.3.16). Белочная оболочка развита умеренно. Корковое вещество представлено генеративными элементами.

ПФ располагались в глубоких зонах коркового вещества, как правило, группами, имели типичную структуру и форму (рис. 3.3.3.17). Редко встречались ПФ с атретическими изменениями. Количество ПФ по сравнению с таковым на 30-е сутки после применения ДГЭА снижалось, при этом оставалось всё же выше значений у животных только после операции, но ниже контроля. Общее количество РФ и АФ было аналогично таковому в предыдущие сроки опыта. Существенных отличий в качественном составе фолликулов и ЖТ по сравнению с предыдущими 40-и сутками эксперимента также не наблюдалось.

Отдельные фолликулы вступали в рост, находились вблизи ПФ, вероятно, в «благополучных» по кровоснабжению и соматическому окружению регионах яичников (рис. 3.3.3.17). Также примечательно, что РФ, находившиеся на ранних этапах развития, в меньшей степени были подвержены дегенеративным изменениям, даже в участках гонад с нарушениями гемодинамики. ПРФ, имеющие нормальную структуру располагались, как правило, вблизи участков текоматоза (рис. 3.3.3.16). Чем выше степень дифференцировки фолликулов, тем чаще обнаруживались признаки атретического процесса (рис. 3.3.3.18). Часто гибель начиналась с разрушения овоцита. Вначале менялась форма половой клетки и его ядра, цитоплазма вакуолизировалась. Ядро подвергалось фрагментации, сморщиванию, становилось гиперхромным. В дальнейшем овоцит исчезал полностью, а прозрачная оболочка гиалинизировалась и утолщалась (рис. 3.3.3.18). На данном этапе фолликулярные клетки сохраняли целостность.

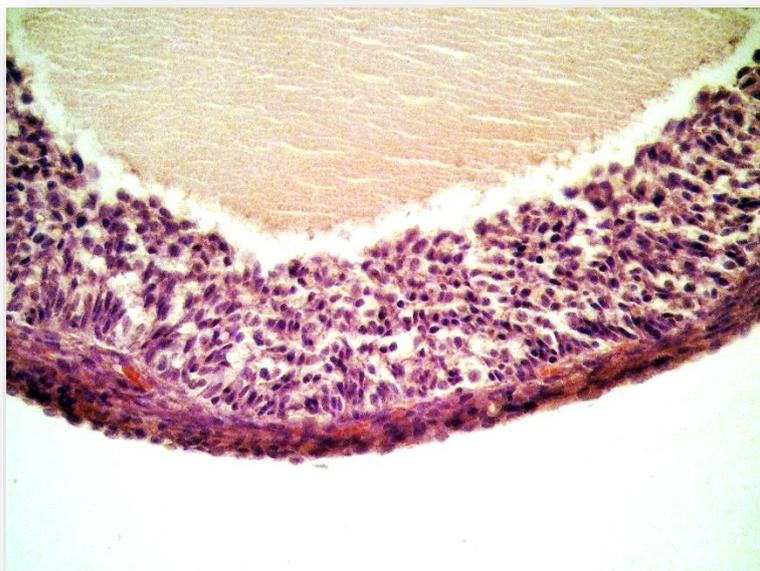


Рис. 3.3.3.15. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.5). Фолликулярная киста. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

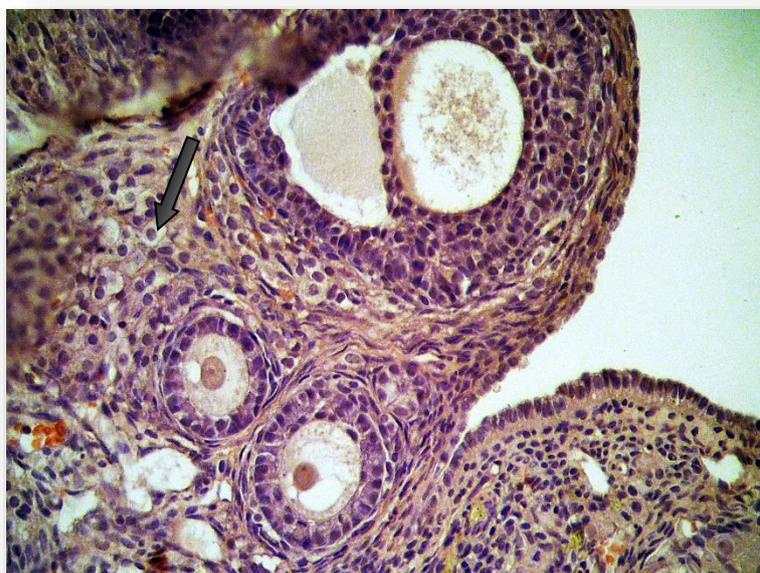


Рис. 3.3.3.16. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.5). Группа растущих фолликулов. Текоматоз стромы (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

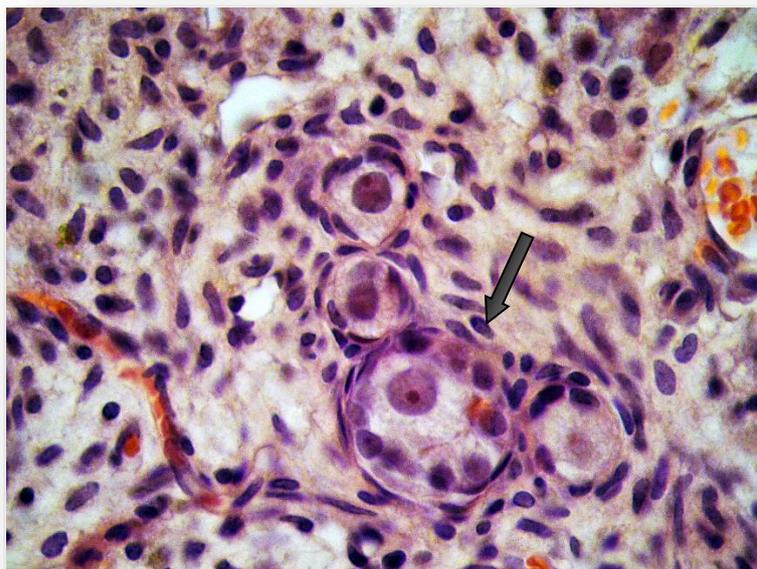


Рис. 3.3.3.17. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.5). Группа примордиальных фолликулов в окружении первичного (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 1000.



Рис. 3.3.3.18. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.5). Сладж эритроцитов в венуле. Первичный фолликул сохранивший целостность. Антральный фолликул с признаками атрезии (стрелка), начало атрезии с половой клетки. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

В дальнейшем изменения выявлялись и в соматическом компоненте фолликулов в виде дезорганизации эпителиоцитов гранулёзы, фрагментации их ядер, конденсации хроматина, наличием многочисленных инвагинаций цитоплазмы, формированием в некоторых участках апоптозных телец (рис. 3.3.3.18). Аналогичные проявления регистрировались и во внутреннем слое теки. Также встречались АФ, в которых процесс атрезии начинался с фолликулярных оболочек. Изменения регистрировались в антральных фолликулах рядом с участками текоматоза, где отсутствовали гемодинамические изменения и обнаруживались преантральные фолликулы, имеющие нормальную структуру (рис. 3.3.3.19). На 60-е сутки выявлены оба известных варианта атрезии антральных фолликулов: дегенерация гранулёзной оболочки вплоть до полной эксфолиации при сохранном внутреннем слое теки, и гипертрофия гранулёзы и внутреннего слоя теки (рис. 3.3.3.20-21). АФ располагались среди нормальных по одиночке или небольшими группами (рис. 3.3.3.20).

В отдельных срезах визуализировались гемодинамические нарушения в виде стаза и сладжа форменных элементов, реже тромбоза сосудов микроциркуляторного русла. В указанных участках форменные элементы крови нередко обнаруживались за пределами сосудистой стенки. Изменения чаще затрагивали мозговое вещество (рис. 3.3.3.22).

На 60-е сутки эксперимента процесс атрезии третичных фолликулов часто заканчивался их кистозной трансформацией. Отличительными признаками изучаемой серии являлось наличие одинакового количества кист в сравнении с серией животных только после операции без применения андрогенов, при том, что общее количество генеративных элементов после применения ДГЭА в среднем оказывалось выше в 1,5 раза. Помимо меньшего относительного количества кист выделялись такие критерии как меньший их размер и формирование в основном из зрелых предовуляторных фолликулов.

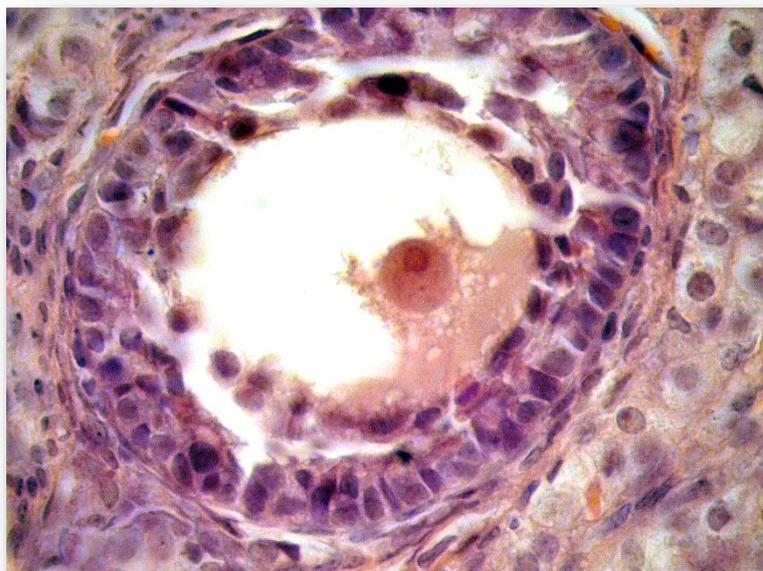


Рис. 3.3.3.19. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.5). Кистозно-атрезирующийся фолликул, первые признаки атрезии в соматическом компоненте. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 800.

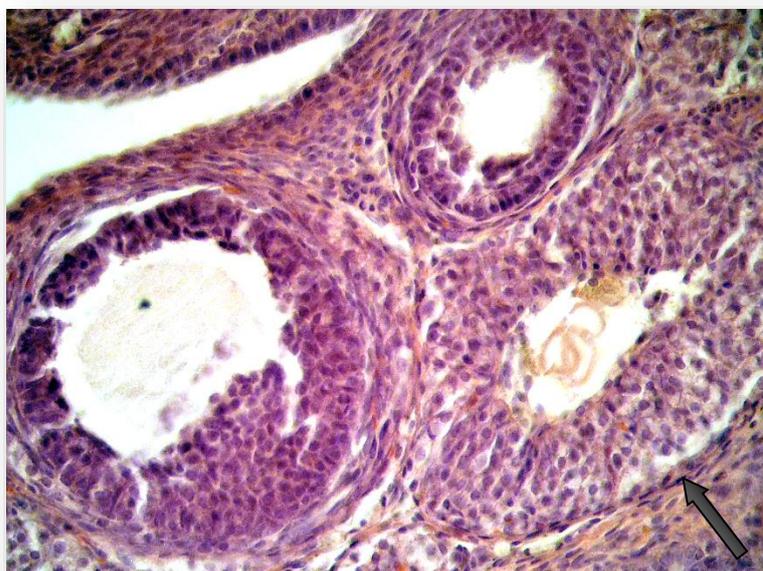


Рис. 3.3.3.20. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.5). Кистозно-атрезирующиеся фолликулы. I вариант атрезии – гипертрофия фолликулярной оболочки (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 400.

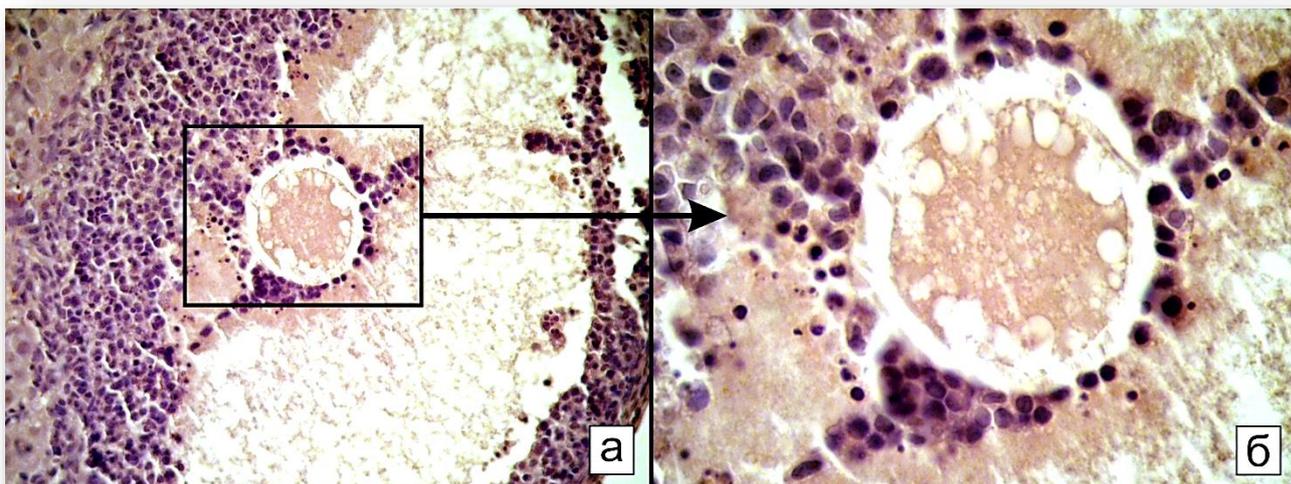


Рис. 3.3.3.21. Фрагмент коркового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.5). А – кистозно-атрезирующийся фолликул, Б – фрагмент предыдущего. II вариант атрезии – дегенерация фолликулярной оболочки. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. а – 400, б – 1000.

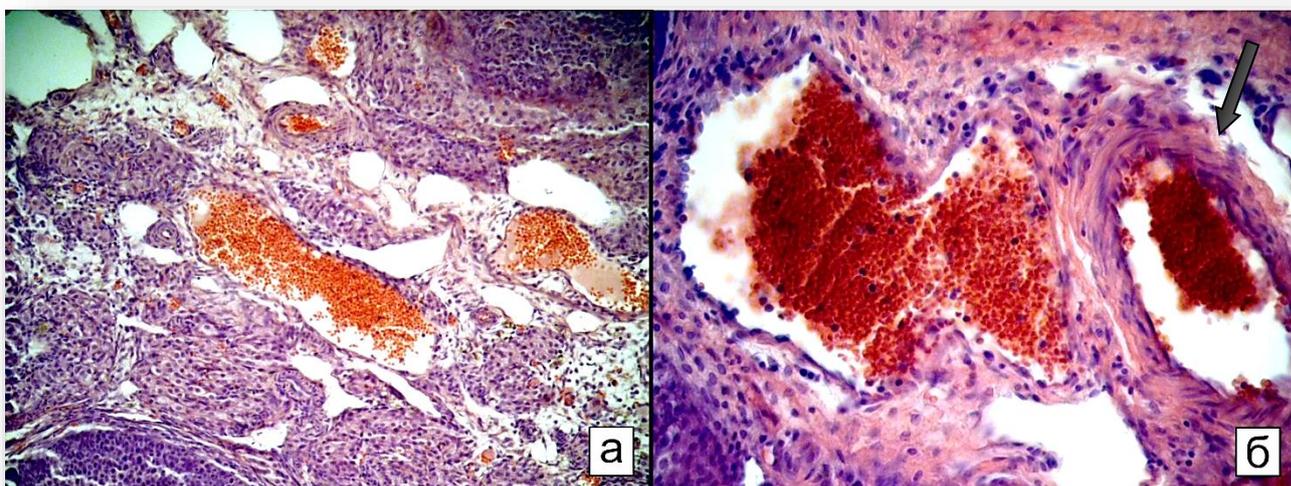


Рис. 3.3.3.22. Фрагмент мозгового вещества яичника крысы на 60-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА (группа 2.5). А – умеренные гемодинамические нарушения в венулах. Б – тромбоз венулы, выход форменных элементов за пределы сосудистой стенки, тромбоз артериолы (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увел. а – 200, б – 400.

Ретенционные кисты имели правильную округлую форму, ровные края, несколько большие, чем у фолликулов предовуляторной стадии, размеры. Полости содержали гомогенный или мелкозернистый секрет. Стенки кист были представлены несколькими слоями тесно расположенных эпителиоцитов гранулёзы и уплощёнными эндокриноцитами теки. Дегенеративные изменения эпителиоцитов гранулёзы были характерны для апикальных слоёв, вероятно, вследствие гидростатического давления. Форма клеток оказывалась неправильной или полигональной, увеличивалось ядерно-цитоплазматическое соотношение. Базальные эпителиоциты гранулёзы имели призматическую или овальную форму, нормальное морфологическое строение (рис. 3.3.3.15). Овоциты в кистозных полостях не определялись. Чаще чем в других сериях обнаруживались кисты с лютеинизированной стенкой на всём протяжении.

Таким образом, данные гистологического исследования и динамика генеративных элементов в яичниках подопытных животных после оперативного вмешательства с удалением маточных рогов, яйцеводов и применения ДГЭА свидетельствовали о транзитном благоприятном эффекте предшественника андрогенов на функцию гонад. Морфогенетические изменения в ранние сроки после окончания применения ДГЭА (2 сутки), несмотря на проведённую ранее операцию, характеризовались полноценностью и завершённой фолликуло- и оогенеза, сохранной овуляторной функцией (инициацией ПФ, увеличением количества всех форм РФ, образованием структурно функциональных ЖТ, замедлением атрезии). Положительный эффект предшественников андрогенов на женские гонады начинал нивелироваться уже в течение ближайших 10 дней после прекращения введения крысам. Динамические и структурные преобразования в гонадах, наблюдаемые в течение месяца (10-30 сутки) после отмены ДГЭА свидетельствовали о формировании вторичной ОН с признаками менее выраженными, чем таковые у животных без применения прогормона. Отмечалось снижение всех форм РФ, дефектный фолликуло- и лютеогенез, хроническая ановуляция, облитерирующая атрезия и кистообразование.

3.3.4. Морфоколичественное исследование яичников с моделями электрохирургического удаления маточных рогов, яйцеводов, их сочетания и после применения дегидроэпиандростерона

Показательной и функционально значимой для выявления эффектов оперативного лечения (удаления маточных рогов, яйцеводов или их сочетания), а также влияния ДГЭА на яичники являлась динамика овосоматических гистионов, результаты исследования которой представлены в таблицах 3.3.4.1-2.

При анализе цифровых данных обращала внимание слабо выраженная тенденция возрастной динамики генеративных элементов в группе контроля в течение всего срока опыта, заключающаяся, главным образом, в незначительном снижении содержания ПФ и увеличении АФ к 60-м суткам контроля (таблица 3.3.4.1). Однако следовало подчеркнуть, что здесь речь шла только о тенденции, так как количество ПФ и АФ в срезе на 2-60-е сутки опыта в группе контроля было значимо неотлично при проведении ANOVA ($F_{4,103}=1,2$, $p=0,315$; $F_{4,103}=0,4$, $p=0,835$, соответственно). Также незначимой оказывалась динамика РФ и ЖТ у контрольных животных ($F_{4,103}=1,5$, $p=0,224$; $F_{4,103}=0,3$, $p=0,876$, соответственно). В связи с этим, колебаниями значений генеративных элементов в различных точках у ложноперированных крыс мы пренебрегли в виду их не выраженности. По этой же причине для статистического анализа были использованы усреднённые значения во всех точках эксперимента.

Сравнения генеративных элементов яичников у крыс с электрохирургическим удалением маточных рогов и яйцеводов с (1.4.1.1-5, контроль)

Тестами многомерной статистики показано, что 17,8% всей вариабельности ПФ, 7,5% – РФ, 1,5% – ПРФ, 7,9% – ВРФ, 17,2% – ТРФ, 26,5% – АФ, 17,6% – ЖТ обусловлено межгрупповыми различиями.

Таблица 3.3.4.1. Динамика среднего содержания генеративных элементов в яичниках ложнооперированных животных в течение 60 суток (M±SE; ±SD)⁵

	ПФ	РФ	ПРФ	ВРФ	ТРФ	АФ	ЖТ
Контроль ^{3.1} (2 сутки)	2,38±0,69; ±3,15	7,76±0,97; ±4,45	0,67±0,19; ±0,86	5,00±0,82; ±3,74	2,1±0,24; ±1,09	3,86±0,61; ±2,78	6,43±0,95; ±4,33
Контроль ^{3.2} (10 сутки)	1,86±0,35; ±1,62	9,71±0,99; ±4,53	0,95±0,19; ±0,87	7,29±0,74; ±3,41	1,48±0,28; ±1,29	4,38±0,51; ±2,31	6,76±0,88; ±4,04
Контроль ^{3.3} (30 сутки)	1,95±0,41; ±1,86	8,52±0,68; ±3,12	1,00±0,18; ±0,84	6,86±0,54; ±2,48	0,67±0,11; ±0,48	4,67±0,57; ±2,61	5,48±0,52; ±2,36
Контроль ^{3.4} (40 сутки)	1,71±0,45; ±2,08	6,90±0,68; ±3,11	0,62±0,23; ±1,07	5,00±0,54; ±2,45	1,29±0,29; ±1,31	4,52±0,66; ±3,03	6,14±0,94; ±4,32
Контроль ^{3.5} (60 сутки)	1,08±0,21; ±1,02	7,88±0,89; ±4,38	0,88±0,20; ±0,99	5,21±0,75; ±3,66	1,79±0,24; ±1,18	4,79±0,64; ±3,15	6,13±0,88; ±4,31
Контроль ³ (усреднённые данные)	1,75±0,20; ±2,03	8,15±0,39; ±4,02	0,82±0,09; ±0,93	5,85±0,32; ±3,30	1,47±0,12; ±1,20	4,45±0,27; ±2,77	6,19±0,38; ±3,90

Примечание: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные растущие фолликулы, ВРФ – вторичные растущие фолликулы, ТРФ – третичные растущие фолликулы, РФ – растущие фолликулы (Σ ПРФ+ВРФ+ТРФ), АФ – атретические фолликулы и тела, ЖТ – желтые тела.

⁵ Здесь и далее в таблицах приведены средние значения, ошибка средней и стандартное отклонение для общего представления о динамике генеративных элементов. Выбор соответствующих критериев для статистической обработки данных проведён с учётом подраздела «статистические методы»: использованы как параметрические, так и непараметрические тесты, уровень значимости конкретных post hoc критериев представлен в виде отдельных таблиц.

Таблица 3.3.4.2. Динамика среднего содержания генеративных элементов в яичниках подопытных животных в течение 60 суток ($M \pm SE$; $\pm SD$)

	ПФ	РФ	ПРФ	ВРФ	ТРФ	АФ	ЖТ
Основная ^{1.2.1.1} (2 сутки) удаление маточных рогов (ЭХ+)	3,17±0,35; ±2,94	12,04±0,47; ±3,98	1,86±0,18; ±1,49	8,51±0,37; ±3,11	1,67±0,15; ±1,26	5,88±0,44; ±3,75	5,88±0,44; ±3,75
Основная ^{1.2.1.2} (10 сутки) удаление маточных рогов (ЭХ+)	2,79±0,30; ±2,57	8,74±0,51; ±4,36	1,65±0,19; ±1,61	5,75±0,37; ±3,10	1,33±0,09; ±0,75	4,08±0,36; ±3,01	4,67±0,35; ±2,96
Основная ^{1.2.1.3} (30 сутки) удаление маточных рогов (ЭХ+)	1,19±0,17; ±1,41	6,13±0,37; ±3,11	1,15±0,14; ±1,17	4,29±0,32; ±2,71	0,68±0,09; ±0,77	3,40±0,28; ±2,41	5,13±0,46; ±3,87
Основная ^{1.2.1.5} (60 сутки) удаление маточных рогов (ЭХ+)	2,50±0,25; ±2,43	5,99±0,43; ±4,18	0,76±0,09; ±0,89	3,98±0,30; ±2,94	1,25±0,10; ±1,02	4,15±0,33; ±3,25	6,52±0,35; ±3,45
Основная ^{1.3.1} (2 сутки) удаление яйцеводов (ЭХ+)	0,93±0,13; ±0,98	9,93±0,64; ±4,74	0,56±0,13; ±0,94	7,82±0,67; ±4,96	1,55±0,16; ±1,18	2,67±0,30; ±2,19	7,91±0,78; ±5,78
Основная ^{1.3.2} (10 сутки) удаление яйцеводов (ЭХ+)	0,58±0,11; ±0,87	6,83±0,55; ±4,28	0,48±0,09; ±0,70	3,45±0,25; ±1,90	2,90±0,36; ±2,76	1,42±0,17; ±1,33	4,20±0,28; ±2,20
Основная ^{1.3.3} (30 сутки) удаление яйцеводов (ЭХ+)	0,92±0,17; ±1,28	6,05±0,37; ±2,86	0,57±0,11; ±0,87	4,62±0,40; ±3,09	0,87±0,15; ±1,19	2,67±0,33; ±2,59	6,33±0,25; ±1,91
Основная ^{1.3.5} (60 сутки) удаление яйцеводов (ЭХ+)	1,22±0,18; ±1,55	5,53±0,41; ±3,49	0,68±0,14; ±1,15	3,17±0,27; ±2,33	1,68±0,15; ±1,28	3,64±0,26; ±2,16	5,17±0,29; ±2,46
Основная ^{1.4.1.1} (2 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	1,72±0,21; ±1,75	6,03±0,35; ±2,90	0,44±0,08; ±0,66	4,69±0,32; ±2,64	0,93±0,10; ±0,82	2,76±0,22; ±1,79	5,32±0,29; ±2,40
Основная ^{1.4.1.2} (10 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,48±0,10; ±0,77	6,33±0,32; ±2,48	0,70±0,12; ±0,89	4,68±0,20; ±1,54	0,95±0,11; ±0,87	1,60±0,21; ±1,61	5,47±0,31; ±2,40
Основная ^{1.4.1.3} (30 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,68±0,12; ±0,89	6,47±0,55; ±4,28	0,47±0,10; ±0,77	5,52±0,46; ±3,56	0,48±0,07; ±0,50	0,82±0,15; ±1,17	6,7±0,50; ±3,84
Основная ^{1.4.1.4} (40 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,67±0,11; ±0,92	7,30±0,58; ±4,84	0,46±0,08; ±0,70	4,81±0,42; ±3,48	2,03±0,26; ±2,12	3,17±0,28; ±2,35	2,71±0,28; ±2,32
Основная ^{1.4.1.5} (60 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,31±0,07; ±0,60	4,38±0,29; ±2,45	0,49±0,10; ±0,81	3,13±0,22; ±1,83	0,76±0,08; ±0,70	0,88±0,10; ±0,86	4,74±0,35; ±3,00
Группа сравнения ^{2.3} (30 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	4,23±0,41; ±2,41	13,46±0,82; ±4,84	3,34±0,43; ±2,57	5,80±0,47; ±2,78	4,31±0,37; ±2,18	0,69±0,18; ±1,05	4,69±0,41; ±2,42
Группа сравнения ^{2.4} (40 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	2,85±0,37; ±2,85	6,50±0,62; ±4,80	1,47±0,20; ±1,57	2,93±0,41; ±3,17	2,10±0,23; ±1,81	0,90±0,18; ±1,39	8,58±0,63; ±4,90
Группа сравнения ^{2.5} (60 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	1,18±0,12; ±1,17	7,40±0,35; ±3,43	1,06±0,12; ±1,12	4,05±0,33; ±3,20	2,29±0,09; ±0,88	0,64±0,08; ±0,77	8,86±0,50; ±4,82
Контроль ³ (усреднённые данные)	1,75±0,20; ±2,03	8,15±0,39; ±4,02	0,82±0,09; ±0,93	5,85±0,32; ±3,30	1,47±0,12; ±1,20	4,45±0,27; ±2,77	6,19±0,38; ±3,90

Примечание: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные растущие фолликулы, ВРФ – вторичные растущие фолликулы, ТРФ – третичные растущие фолликулы, РФ – растущие фолликулы (Σ ПРФ+ВРФ+ТРФ), АФ – атретические фолликулы и тела, ЖТ – желтые тела.

При сравнении с контролем непараметрическими тестами (Н-Краскела-Уоллиса и медианным критерием) показано, что имеет место значимая разница количества ПФ ($H=78,7$, $p<0,001$; $H=59,2$, $p<0,001$), РФ ($H=41,7$, $p=0,001$; $H=21,5$, $p=0,001$), АФ ($H=152,1$, $p<0,001$; $H=138,0$, $p<0,001$), ЖТ ($H=68,4$, $p<0,001$; $H=32,8$, $p<0,001$), соответственно. В группе РФ значимо отличается каждая подгруппа фолликулов по отношению к таковой в контроле: ПРФ ($H=16,1$, $p=0,007$; $H=15,5$, $p=0,009$), ВРФ ($H=39,6$, $p<0,001$; $H=31,7$, $p<0,001$), и ТРФ ($H=42,3$, $p<0,001$; $H=49,9$, $p<0,001$), соответственно.

Здесь и далее, учитывая относительную возможность применения параметрических тестов (среднее количество срезов в каждой подгруппе около 70) дополнительно проведены ANOVA, при необходимости (нарушение условия равенства дисперсий) представлены робастные критерии Уэлча и Брауна-Форсайта) и отдельные post hoc тесты на основе t-критерия.

Однофакторным дисперсионным анализом также показано, что имеет место значимая разница количества ПФ ($F_{5,432}=16,8$, $p<0,001$), РФ ($F_{5,432}=10,2$, $p<0,001$), АФ ($F_{5,432}=43,7$, $p<0,001$), ЖТ ($F_{5,432}=14,0$, $p<0,001$). В группе РФ значимо отличается каждая подгруппа фолликулов по отношению к таковой в контроле: ПРФ ($F_{5,432}=3,4$, $p=0,005$), ВРФ ($F_{5,432}=8,5$, $p<0,001$), и ТРФ ($F_{5,432}=15,5$, $p<0,001$).

При сравнении медиан количества генеративных элементов после операции удаления маточных рогов и яйцеводов с таковым у контрольных крыс критерий Джонкхира-Терпстры демонстрировал однонаправленную динамику изменений: ПФ ($p<0,001$), РФ ($p<0,001$), ПРФ ($p=0,002$), ВРФ ($p<0,001$), ТРФ ($p=0,004$), АФ ($p<0,001$), ЖТ ($p<0,001$).

В случаях значимых отличий для выяснения какие именно точки эксперимента отличались от контроля проведены апостериорные критерии размаха и тесты, не предполагающие равенство дисперсий (Т2 Тамхейна, Т3 Даннетта, Геймса-Хоуэла), а также парные сравнения U-критерием Манна-Уитни. Для решения проблемы множественных сравнений установлен критический уровень значимости ($p=0,01$), учитывая наличие 6 сравниваемых

групп (5 групп опыта и 1 контрольной) и 5 парных сравнений (подробно в главе «материал и методы»).

У животных с удаленными маточными рогами и яйцеводами критерии Дункана, Габриэля, REGWQ демонстрировали выделение в два однородных подмножества ПФ (контроль-2 сутки и остальные 4 точки опыта – 30-40-10-60); в три однородных подмножества РФ (60-е сутки, 2-10-30-40-е сутки и 40-е сутки-контроль), АФ (30-60-10-е сутки, 2-40-е сутки и контроль), ЖТ (40-е сутки, 60-2-10-е сутки и 2-10-контроль-30-е сутки опыта). Результаты *post hoc* тестов представлены в таблице 3.3.4.3.

Статистически значимые отличия имелись при сравнении среднего количества ПФ на 2-е сутки опыта с таковыми на 10, 30, 40 и 60-е ($p \leq 0,001$). Сравнения ПФ на 30-60-е и 40-60-е сутки демонстрируют неубедительные данные значимости ($0,004 \leq p \leq 0,097$). При остальных парных сравнениях значимых отличий количества ПФ не выявлено ($p \geq 0,140$).

Существенные различия показаны для среднего количества РФ в контроле при сравнении с таковым на 2, 10 и 60-е сутки опыта ($0,001 \leq p \leq 0,01$), а также при сравнении на 60-е сутки опыта и 2, 10, 40-е ($0,001 \leq p \leq 0,006$) сутки, неубедительные на 60-е и 30-е ($0,009 \leq p \leq 0,017$) сутки. При остальных сравнениях значимых отличий среднего количества РФ не выявлено ($0,019 \leq p \leq 1,0$).

Несмотря на отсутствие вклада ПРФ во внутригрупповые изменения РФ, отмечена их роль в общей тенденции снижения РФ. На 2, 30, 40 и 60-е сутки опыта количество ПРФ в среднем оказывалось ниже контрольных значений на 40-45% (значимые сравнения критерием Манна-Уитни и отдельные t-Даннетта). Среднее количество ВРФ в срезе значимо отличалось от контроля только на 60-е сутки (на 47% меньше контроля, $p < 0,001$), в остальные точки опыта значения оказывались незначимыми или неубедительными (на 6-20% ниже контроля, $p > 0,007$). Количество ТРФ существенно отличалось от контроля на 30-е и 60-е сутки опыта (на 67% и 48% ниже контроля, $p < 0,001$).

Таблица 3.3.4.3. Апостериорные сравнения генеративных элементов в яичниках подопытных животных после удаления маточных рогов и яйцеводов (p, уровень значимости последовательно тестами T2 Тамхейна, Геймса-Хоуэла, Манна-Уитни и двусторонний t-Даннетта

	ПФ	ПРФ	ВРФ	ТРФ	РФ	АФ	ЖТ
1.4.1.1 (2 сутки) – 1.4.1.2 (10 сутки)	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,599; p=0,403; p=0,102	p=1,000; p=1,000; p=0,712	p=1,000; p=1,000; p=0,976	p=1,000; p=0,988; p=0,562	p=0,002; p=0,002; p<0,001	p=1,000; p=0,998; p=0,678
1.4.1.1 (2 сутки) – 1.4.1.3 (30 сутки)	p=0,001; p=0,001; p<0,001	p=1,000; p=1,000; p=0,898	p=0,864; p=0,634; p=0,276	p=0,003; p=0,002; p=0,001	p=1,000; p=0,985; p=0,861	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,213; p=0,148; p=0,017
1.4.1.1 (2 сутки) – 1.4.1.4 (40 сутки)	p=0,001; p=0,001; p<0,001	p=1,000; p=1,000; p=0,862	p=1,000; p=1,000; p=0,779	p=0,002; p=0,002; p=0,008	p=0,623; p=0,421; p=0,304	p=0,988; p=0,862; p=0,483	p<0,001; p<0,001; p<0,001
1.4.1.1 (2 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=0,998; p=0,947	p=0,002; p=0,002; p=0,001	p=0,938; p=0,737; p=0,207	p=0,006; p=0,005; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,979; p=0,830; p=0,080
1.4.1.1 (2 сутки) – контроль	p=1,000; p=1,000; p=0,888; p=0,999	p=0,019; p=0,016; p=0,005; p=0,009	p=0,118; p=0,087; p=0,014; p=0,033	p=0,009; p=0,008; p=0,008; p=0,017	p=0,001; p=0,001; p=0,001; p=0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,608; p=0,412; p=0,535; p=0,249
1.4.1.2 (10 сутки) – 1.4.1.3 (30 сутки)	p=0,959; p=0,777; p=0,140	p=0,869; p=0,641; p=0,105	p=0,793; p=0,558; p=0,298	p=0,008; p=0,007; p=0,003	p=1,000; p=1,000; p=0,8	p=0,042; p=0,033; p=0,002	p=0,435; p=0,291; p=0,048
1.4.1.2 (10 сутки) – 1.4.1.4 (40 сутки)	p=0,976; p=0,820; p=0,223	p=0,793; p=0,560; p=0,143	p=1,000; p=1,000; p=0,169	p=0,003; p=0,003; p=0,010	p=0,908; p=0,690; p=0,668	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001
1.4.1.2 (10 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p=0,908; p=0,690; p=0,216	p=0,918; p=0,705; p=0,105	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,954; p=0,766; p=0,241	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,034; p=0,027; p=0,023	p=0,859; p=0,630; p=0,041
1.4.1.2 (10 сутки) – контроль	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,999; p=0,956; p=0,365; p=0,835	p=0,032; p=0,026; p=0,007; p=0,054	p=0,021; p=0,018; p=0,010; p=0,028	p=0,006; p=0,005; p=0,010; p=0,010	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,899; p=0,680; p=0,781; p=0,510
1.4.1.3 (30 сутки) – 1.4.1.4 (40 сутки)	p=1,000; p=1,000; p=0,783	p=1,000; p=1,000; p=0,767	p=0,989; p=0,866; p=0,255	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,995; p=0,902; p=0,286	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001
1.4.1.3 (30 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p=0,088; p=0,066; p=0,004	p=1,000; p=1,000; p=0,947	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,123; p=0,089; p=0,027	p=0,017; p=0,014; p=0,009	p=1,000; p=1,000; p=0,170	p=0,025; p=0,020; p=0,005
1.4.1.3 (30 сутки) – контроль	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,117; p=0,086; p=0,007; p=0,028	p=1,000; p=0,991; p=0,398; p=0,940	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,192; p=0,135; p=0,019; p=0,021	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=0,962; p=0,315; p=0,795
1.4.1.4 (40 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p=0,097; p=0,072; p=0,009	p=1,000; p=1,000; p=0,807	p=0,008; p=0,007; p=0,016	p<0,001; p<0,001; p=0,001	p<0,001; p<0,001; p=0,004	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001
1.4.1.4 (40 сутки) – контроль	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,054; p=0,042; p=0,008; p=0,018	p=0,535; p=0,360; p=0,021; p=0,085	p=0,534; p=0,357; p=0,533; p=0,011	p=0,980; p=0,833; p=0,080; p=0,458	p=0,018; p=0,015; p=0,002; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001
1.4.1.5 (60 сутки) – контроль	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,143; p=0,104; p=0,006; p=0,028	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,080; p=0,061; p=0,014; p=0,012

Примечание 1: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные фолликулы, ВРФ – вторичные фолликулы, ТРФ – третичные и зрелые фолликулы, РФ – растущие фолликулы (Σ ПРФ+ВРФ+ТРФ), АФ – атретические фолликулы и тела, ЖТ – желтые тела.

Примечание 2: Статистически значимые отличия помечены розовым цветом, неубедительные (хотя бы один тест значим) – желтым, критическое p=0,01.

Статистически значимые различия были показаны для среднего количества АФ в контроле при сравнении с таковым на 2, 10, 30 и 60-е сутки опыта ($p < 0,001$). При сравнениях контроля с 40-и сутками ($0,001 \leq p \leq 0,018$) и в паре 10-30-е сутки ($0,002 \leq p \leq 0,042$) показаны неубедительные данные. При сравнении количества АФ в срезе на 2-е (и на 40-е сутки) с таковым на 10, 30 и 60-е сутки опыта также получены существенные отличия ($p < 0,001$). При остальных парных сравнениях значимых отличий среднего количества АФ не выявлено ($p \geq 0,023$).

Показано, что выраженные отличия имелись при сравнении среднего количества ЖТ на 40-е сутки опыта с таковыми на 2, 10, 30, 60-е сутки и в контроле ($p \leq 0,001$). Сравнения ЖТ на 30-60-е сутки демонстрировали неубедительные данные значимости ($0,005 \leq p \leq 0,025$). При остальных сравнениях существенных отличий среднего количества ЖТ не выявлено ($p \geq 0,017$).

Далее было произведено изучение линейных взаимосвязей между ПФ, РФ, АФ и ЖТ в каждой точке и на протяжении всего эксперимента (1.4.1.1-5). Здесь и далее (для других серий) при проведении корреляционного анализа в каждой точке эксперимента не выявлено сильных часто повторяющихся значимых линейных связей, в связи с чем изучены суммарные корреляции (рис. 3.3.4.5).

Получены значимые слабые корреляционные связи между ПФ и РФ ($r_p = 0,257$, $p < 0,001$; $r_s = 0,278$, $p < 0,001$; $\tau_b = 0,222$, $p < 0,001$, линейный $R^2 = 0,066$), ПФ и АФ ($r_p = 0,177$, $p = 0,001$; $r_s = 0,181$, $p = 0,001$; $\tau_b = 0,150$, $p = 0,001$, линейный $R^2 = 0,031$), РФ и АФ ($r_p = 0,346$, $p < 0,001$; $r_s = 0,279$, $p < 0,001$; $\tau_b = 0,217$, $p < 0,001$, линейный $R^2 = 0,120$), АФ и ЖТ ($r_p = -0,210$, $p < 0,001$; $r_s = -0,209$, $p < 0,001$; $\tau_b = -0,164$, $p < 0,001$, линейный $R^2 = 0,044$), незначимые между РФ и ЖТ ($r_p = 0,1$, $p = 0,071$; $r_s = 0,095$, $p = 0,085$; $\tau_b = 0,068$, $p = 0,091$, линейный $R^2 = 0,010$), ПФ и ЖТ ($r_p = 0,138$, $p = 0,012$; $r_s = 0,095$, $p = 0,086$; $\tau_b = 0,074$, $p = 0,095$, линейный $R^2 = 0,019$). Также выявлены существенные корреляции Пирсона средней силы: положительные между ВРФ и ЖТ ($r_p = 0,197$, $p < 0,001$; $r_s = 0,187$, $p = 0,001$; $\tau_b = 0,138$, $p = 0,001$, линейный $R^2 = 0,039$), отрицательные между ТРФ и ЖТ ($r_p = -0,200$, $p < 0,001$; $r_s = -0,068$, $p = 0,219$; $\tau_b = -0,043$, $p = 0,329$, линейный $R^2 = 0,04$).

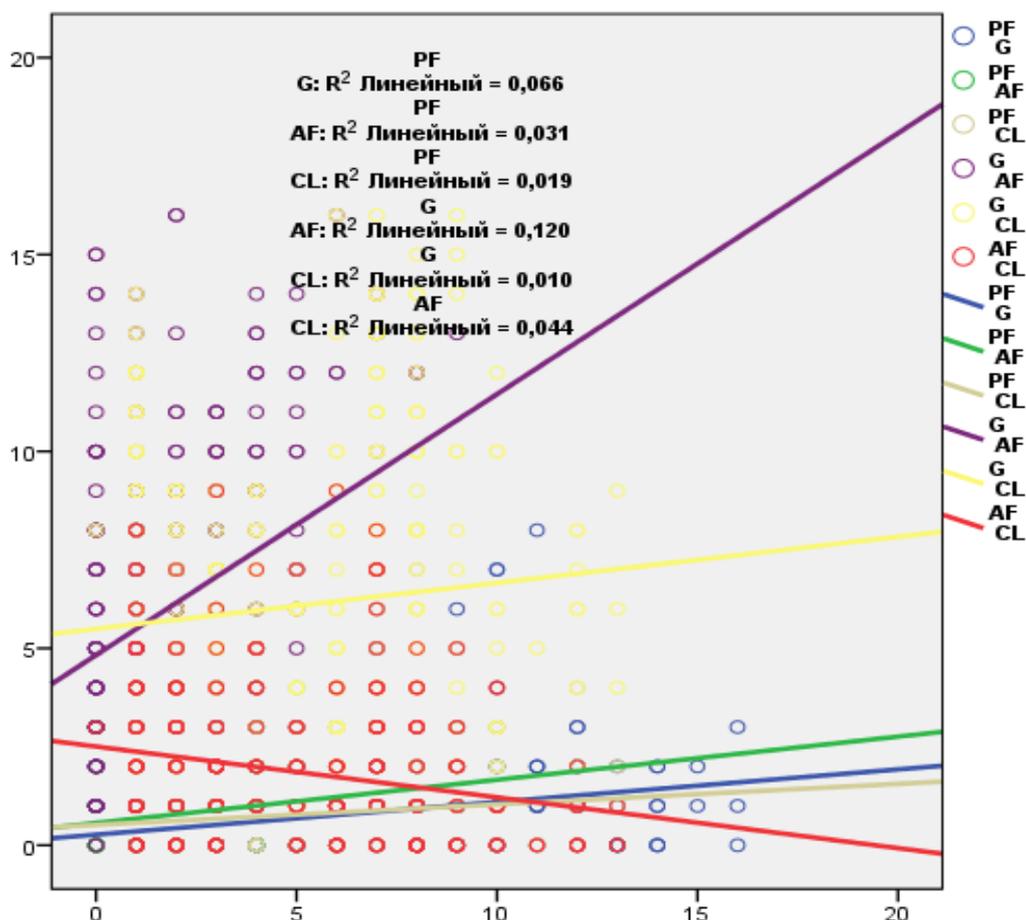


Рис. 3.3.4.5. Скаттерограмма с регрессионными прямыми для различных генеративных элементов у крыс после удаления маточных рогов и яйцеводов

В контрольной группе выявлены значимые корреляционные связи слабые между ПФ и ЖТ ($r_p=0,228$, $p=0,018$; $r_s=0,338$, $p<0,001$; $\tau_b=0,241$, $p=0,001$, линейный $R^2=0,052$), средние между РФ и АФ ($r_p=0,352$, $p<0,001$; $r_s=0,416$, $p<0,001$; $\tau_b=0,308$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,124$), РФ и ЖТ ($r_p=0,504$, $p<0,001$; $r_s=0,305$, $p=0,001$; $\tau_b=0,183$, $p=0,01$, линейный $R^2=0,254$), незначимые между ПФ и РФ ($r_p=0,155$, $p=0,11$; $r_s=0,237$, $p=0,013$; $\tau_b=0,177$, $p=0,016$, линейный $R^2=0,024$), ПФ и АФ ($r_p=0,027$, $p=0,781$; $r_s=0,080$, $p=0,410$; $\tau_b=0,061$, $p=0,416$, линейный $R^2<0,001$), АФ и ЖТ ($r_p=0,081$, $p=0,403$; $r_s=-0,007$, $p=0,942$; $\tau_b=-0,004$, $p=0,955$, линейный $R^2=0,007$). Также установлены существенные положительные корреляции Пирсона: средней силы между ТРФ и ЖТ ($r_p=0,656$, $p<0,001$; $r_s=0,510$, $p<0,001$; $\tau_b=0,383$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,43$), слабая между ВРФ и ЖТ ($r_p=0,252$, $p=0,008$; $r_s=0,130$, $p=0,182$; $\tau_b=0,073$, $p=0,306$, линейный $R^2=0,064$).

Сравнения генеративных элементов яичников у животных с электрохирургическим удалением только маточных рогов (1.2.1.1-5, контроль)

Тестами многомерной статистики показано, что 8,2% всей вариабельности ПФ, 27,8% – РФ, 10,6% – ПРФ, 26,7% – ВРФ, 11,1% – ТРФ, 7,3% – АФ, 5,0% – ЖТ обусловлено межгрупповыми различиями.

При сравнении с контролем тестами Краскела-Уоллиса, ANOVA, Уэлча и Брауна-Форсайта показана значимая разница количества ПФ ($H=31,5$, $p<0,001$; $F_{4,415}=9,1$, $p<0,001$; $F=11,5$, $p<0,001$ и $F=8,9$; $p<0,001$), РФ ($H=88,2$, $p<0,001$; $F_{4,415}=29,4$, $p<0,001$; $F=30,8$, $p<0,001$ и $F=29,7$; $p<0,001$), АФ ($H=18,8$, $p=0,001$; $F_{4,415}=6,5$, $p<0,001$; $F=5,8$, $p<0,001$ и $F=6,4$; $p<0,001$), ЖТ ($H=19,0$, $p=0,001$; $F_{4,415}=4,2$, $p=0,003$; $F=4,4$, $p=0,002$ и $F=4,4$; $p=0,002$), соответственно.

В группе РФ существенно изменялась каждая подгруппа: ПРФ ($H=41,8$, $p<0,001$; $F_{4,415}=13,7$, $p<0,001$; $F=11,9$, $p<0,001$ и $F=12,6$; $p<0,001$), ВРФ ($H=78,5$, $p<0,001$; $F_{4,415}=26,6$, $p<0,001$; $F=27,1$, $p<0,001$ и $F=27,0$; $p<0,001$) и ТРФ ($H=32,8$, $p<0,001$; $F_{4,415}=9,5$, $p<0,001$; $F=12,7$, $p<0,001$ и $F=9,9$; $p<0,001$), соответственно. Критерий Джонкхира-Терпстры демонстрировал однонаправленность изменений количества: РФ, ВРФ ($p<0,001$), ТРФ ($p=0,004$), АФ ($p=0,017$). Для ПФ ($p=0,730$), ПРФ ($p=0,252$), ЖТ ($p=0,938$) таковой не выявлено.

Результаты post hoc тестов представлены в таблице 3.3.4.4. Для решения проблемы множественных сравнений установлен критический уровень значимости $p=0,0085$ (для сравнений между 1.2.1.1-5) и $p=0,0127$ (при сравнении 1.2.1.1-5 с контролем).

Статистически значимые отличия имелись при сравнении среднего количества ПФ на 30-е сутки опыта с таковыми на 2, 10 и 60-е ($p<0,001$), а также на 2-е при сравнении с контролем ($p\leq 0,005$). Сравнения ПФ на 10-е сутки и в контроле показывало неубедительные данные значимости ($0,006\leq p\leq 0,045$). При остальных сравнениях существенных отличий указанными тестами не выявлено ($p\geq 0,029$). ANOVA, H-тестом Краскела-Уоллиса при исключении 30-х суток эксперимента для ПФ показаны значимые различия ($F_{3,344}=5,4$, $p=0,001$; $H=14,5$, $p=0,002$).

Таблица 3.3.4.4. Апостериорные сравнения генеративных элементов в яичниках подопытных животных после удаления только маточных рогов (р, уровень значимости последовательно тестами Т2 Тамхейна, Геймса-Хоуэла, Манна-Уитни и двусторонний t-Даннетта

	ПФ	ПРФ	ВРФ	ТРФ	РФ	АФ	ЖТ
1.2.1.1 (2 сутки) – 1.2.1.2 (10 сутки)	p=0,995; p=0,926; p=0,510	p=0,996; p=0,928; p=0,230	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,436; p=0,306; p=0,359	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,019; p=0,016; p=0,005	p=0,052; p=0,042; p=0,003
1.2.1.1 (2 сутки) – 1.2.1.3 (30 сутки)	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,018; p=0,016; p=0,003	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,804; p=0,598; p=0,005
1.2.1.1 (2 сутки) – 1.2.1.5 (60 сутки)	p=0,720; p=0,521; p=0,156	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,205; p=0,149; p=0,050	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,021; p=0,018; p=0,002	p=0,763; p=0,560; p=0,182
1.2.1.1 (2 сутки) – контроль	p=0,005; p=0,005; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,972; p=0,838; p=0,235; p=0,567	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,066; p=0,052; p=0,015; p=0,009	p=0,999; p=0,958; p=0,294; p=0,942
1.2.1.2 (10 сутки) – 1.2.1.3 (30 сутки)	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,300; p=0,214; p=0,069	p=0,031; p=0,026; p=0,002	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,001; p=0,001; p<0,001	p=0,770; p=0,566; p=0,231	p=0,996; p=0,931; p=0,894
1.2.1.2 (10 сутки) – 1.2.1.5 (60 сутки)	p=0,998; p=0,945; p=0,471	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,003; p=0,002; p<0,001	p=1,000; p=0,973; p=0,332	p=0,001; p=0,001; p<0,001	p=1,000; p=1,000; p=0,992	p=0,003; p=0,002; p<0,001
1.2.1.2 (10 сутки) – контроль	p=0,045; p=0,036; p=0,006; p=0,012	p=0,001; p=0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=1,000; p=0,742; p=0,999	p=0,984; p=0,874; p=0,883; p=0,810	p=0,989; p=0,891; p=0,166; p=0,752	p=0,994; p=0,919; p=0,436; p=0,859	p=0,034; p=0,028; p=0,014; p=0,013
1.2.1.3 (30 сутки) – 1.2.1.5 (60 сутки)	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,175; p=0,129; p=0,034	p=0,998; p=0,953; p=0,403	p=0,001; p=0,001; p<0,001	p=1,000; p=0,999; p=0,840	p=0,615; p=0,437; p=0,270	p=0,154; p=0,115; p=0,009
1.2.1.3 (30 сутки) – контроль	p=0,274; p=0,197; p=0,055; p=0,342	p=0,385; p=0,271; p=0,077; p=0,234	p=0,007; p=0,006; p=0,002; p=0,003	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,002; p=0,002; p=0,001; p=0,003	p=0,075; p=0,059; p=0,012; p=0,085	p=0,540; p=0,381; p=0,029; p=0,134
1.2.1.5 (60 сутки) – контроль	p=0,170; p=0,126; p=0,029; p=0,075	p=1,000; p=0,987; p=0,623; p=0,989	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,810; p=0,606; p=0,263; p=0,370	p=0,002; p=0,002; p<0,001; p<0,001	p=0,998; p=0,951; p=0,260; p=0,897	p=0,999; p=0,966; p=0,349; p=0,902

Примечание 1: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные фолликулы, ВРФ – вторичные фолликулы, ТРФ – третичные и зрелые фолликулы, РФ – растущие фолликулы (Σ ПРФ+ВРФ+ТРФ), АФ – атретические фолликулы и тела, ЖТ – желтые тела.

Примечание 2: Статистически значимые отличия помечены розовым цветом, неубедительные (хотя бы один тест значим) – желтым, критическое p=0,0127

Тестами T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла, U-критерием Манна-Уитни для РФ выявлены несущественные результаты сравнений только между 30-и и 60-и сутками, а также 10-и сутками и контролем ($p \geq 0,166$). Все остальные – оказывались значимыми ($p \leq 0,003$).

Для ПРФ выше представленные тесты демонстрировали статистически значимые отличия между контролем (равно как и 60-и сутками) и 2-и, 10-и сутками ($p \leq 0,001$), неубедительные данные получены при сравнении ПРФ на 2-е и 30-е сутки (значимые Манна-Уитни, $p = 0,003$ и незначимые остальными тестами $p \geq 0,016$). Все остальные сравнения оказывались несущественными ($p \geq 0,034$). Для ВРФ тесты T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла, U-критерий Манна-Уитни показывали незначимые отличия только между 30-и и 60-и сутками, а также 10-и сутками и контролем ($p \geq 0,403$), неубедительные данные получены при сравнении между 10-и и 30-и сутками (значимые Манна-Уитни, $p = 0,002$ и незначимые остальными тестами $p \geq 0,026$). Все остальные сравнения оказывались существенными ($p \leq 0,007$). Post hoc тестами показаны значимые различия количества ТРФ на 30-е сутки с таковым на 2, 10, 60-е сутки, в контроле ($p \leq 0,001$), остальные оказывались несущественными ($p \geq 0,05$).

Критерии T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла, U-Манна-Уитни для АФ показали значимую разницу при сравнениях на 2-е и 30-е сутки опыта ($p \leq 0,001$), неубедительные данные при сравнениях на 2-е и 10-е, 2-е и 60-е сутки опыта (значимые Манна-Уитни, $p = 0,005$ и $p = 0,002$; незначимые остальными тестами $p \geq 0,016$ и $p \geq 0,018$, соответственно). Также получены неубедительные данные при сравнениях в контроле и на 2-е сутки (значимые t-Даннетта, $p = 0,009$; незначимые остальными тестами $p \geq 0,015$). При остальных сравнениях существенных отличий указанными тестами не выявлено ($p \geq 0,012$). ANOVA и H-тестом Краскела-Уоллиса при исключении 2-х суток эксперимента для АФ показаны незначимые различия ($F_{3,344} = 1,9$, $p = 0,125$; $H = 5,4$, $p = 0,143$).

Для ЖТ получена существенная разница при сравнениях на 10-е и 60-е сутки ($p \leq 0,003$), неубедительные данные при сравнениях на 2-е и 10-е, 2-е и 30-е, 30-е и 60-е сутки (значимые Манна-Уитни, $p \leq 0,009$; незначимые остальными

тестами $p \geq 0,042$), остальные сравнения существенных отличий не выявили ($p \geq 0,013$). ANOVA и критерием Джонкхира-Терпстры при исключении 10-х суток эксперимента для ЖТ показаны незначимые различия ($F_{3,344}=2,4$, $p=0,069$ и $p=0,608$, соответственно).

Далее было произведено изучение линейных взаимосвязей между ПФ, РФ, АФ и ЖТ на протяжении всего эксперимента (1.2.1.1-5), результаты представлены на рис. 3.3.4.6.

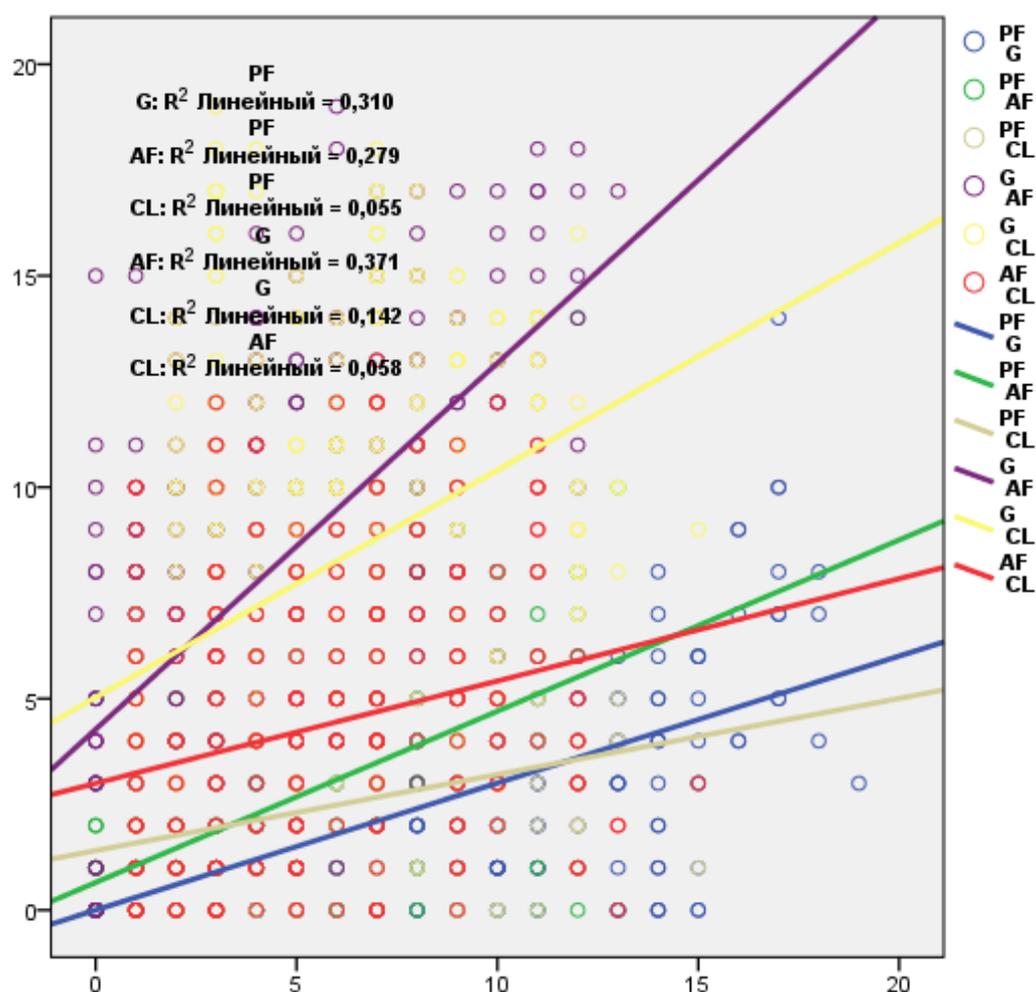


Рис. 3.3.4.6. Скаттерограмма с регрессионными прямыми для различных генеративных элементов у крыс после удаления маточных рогов

Каждым из исследованных методов (R Пирсона, ρ Спирмена и τ_b Кендалла) получены максимально значимые положительные корреляционные связи: слабые между ПФ и ЖТ ($r_p=0,234$, $p<0,001$; $r_s=0,296$, $p<0,001$; $\tau_b=0,218$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,055$), АФ и ЖТ ($r_p=0,241$, $p<0,001$; $r_s=0,285$, $p<0,001$; $\tau_b=0,210$,

$p < 0,001$, линейный $R^2=0,058$) и средние между ПФ и РФ ($r_p=0,557$, $p < 0,001$; $r_s=0,567$, $p < 0,001$; $\tau_b=0,446$, $p < 0,001$, линейный $R^2=0,310$), ПФ и АФ ($r_p=0,528$, $p < 0,001$; $r_s=0,500$, $p < 0,001$; $\tau_b=0,391$, $p < 0,001$, линейный $R^2=0,279$), РФ и АФ ($r_p=0,609$, $p < 0,001$; $r_s=0,604$, $p < 0,001$; $\tau_b=0,461$, $p < 0,001$, линейный $R^2=0,371$), РФ и ЖФ ($r_p=0,377$, $p < 0,001$; $r_s=0,409$, $p < 0,001$; $\tau_b=0,293$, $p < 0,001$, линейный $R^2=0,142$). Отрицательных и незначимых связей не было получено.

Сравнения генеративных элементов яичников у животных с электрохирургическим удалением только яйцеводов (1.3.1-5, контроль)

Тестами многомерной статистики показано, что 3,5% всей вариабельности ПФ, 15,8% – РФ, <1% – ПРФ, 24,2% – ВРФ, 15,1% – ТРФ, 6,4% – АФ, 14,0% – ЖТ обусловлено межгрупповыми различиями.

При сравнении с контролем тестами Краскела-Уоллиса, ANOVA, Уэлча и Брауна-Форсайта показана значимая разница количества ПФ ($H=25,1$, $p < 0,001$; $F_{4,350}=67,7$, $p < 0,001$; $F=7,5$, $p < 0,001$ и $F=8,9$, $p < 0,001$), РФ ($H=47,0$, $p < 0,001$; $F_{4,350}=12,9$, $p < 0,001$; $F=12,2$, $p < 0,001$ и $F=12,8$; $p < 0,001$), ВРФ ($H=69,1$, $p < 0,001$; $F_{4,350}=21,8$, $p < 0,001$; $F=20,0$, $p < 0,001$ и $F=20,8$; $p < 0,001$), ТРФ ($H=37,2$, $p < 0,001$; $F_{4,350}=13,4$, $p < 0,001$; $F=8,3$, $p < 0,001$ и $F=12,3$; $p < 0,001$), АФ ($H=68,8$, $p < 0,001$; $F_{4,350}=18,6$, $p < 0,001$; $F=27,7$, $p < 0,001$ и $F=20,2$; $p < 0,001$), ЖТ ($H=29,6$, $p < 0,001$; $F_{4,350}=9,1$, $p < 0,001$; $F=11,5$, $p < 0,001$ и $F=8,9$; $p < 0,001$), соответственно. Значимых изменений ПРФ не выявлено ($H=9,0$, $p=0,060$; $F_{4,350}=1,7$, $p=0,158$; $F=2,0$, $p=0,097$ и $F=1,7$; $p=0,150$, соответственно).

Результаты post hoc тестов представлены в таблице 3.3.4.5. Для решения проблемы множественных сравнений установлен критический уровень значимости $p=0,0085$ (для сравнений между 1.3.1-5) и $p=0,0127$ (при сравнении 1.3.1-5 с контролем).

Таблица 3.3.4.5. Апостериорные сравнения генеративных элементов в яичниках подопытных животных после удаления только яйцеводов (р, уровень значимости последовательно тестами Т2 Тамхейна, Геймса-Хоуэла, Манна-Уитни и двусторонний t-Даннетта)

	ПФ	ПРФ	ВРФ	ТРФ	РФ	АФ	ЖТ
1.3.1 (2 сутки) – 1.3.2 (10 сутки)	p=0,399; p=0,280; p=0,034	p=1,000; p=0,986; p=0,956	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,008; p=0,007; p=0,036	p=0,004; p=0,003; p<0,001	p=0,004; p=0,004; p=0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001
1.3.1 (2 сутки) – 1.3.3 (30 сутки)	p=1,000; p=1,000; p=0,486	p=1,000; p=1,000; p=0,889	p=0,001; p=0,001; p=0,004	p=0,027; p=0,022; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=1,000; p=0,763	p=0,452; p=0,314; p=0,647
1.3.1 (2 сутки) – 1.3.5 (60 сутки)	p=0,883; p=0,686; p=0,629	p=0,999; p=0,970; p=0,991	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=0,972; p=0,480	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,137; p=0,103; p=0,004	p=0,015; p=0,013; p=0,047
1.3.1 (2 сутки) – контроль	p=0,005; p=0,004; p=0,011; p=0,003	p=0,632; p=0,448; p=0,034; p=0,295	p=0,092; p=0,070; p=0,113; p=0,001	p=1,000; p=0,996; p=0,574; p=0,997	p=0,176; p=0,129; p=0,040; p=0,024	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,400; p=0,279; p=0,084; p=0,013
1.3.2 (10 сутки) – 1.3.3 (30 сутки)	p=0,644; p=0,457; p=0,179	p=1,000; p=0,978; p=0,827	p=0,135; p=0,101; p=0,018	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,937; p=0,764; p=0,802	p=0,013; p=0,011; p=0,004	p<0,001; p<0,001; p<0,001
1.3.2 (10 сутки) – 1.3.5 (60 сутки)	p=0,035; p=0,028; p=0,009	p=0,925; p=0,745; p=0,900	p=0,997; p=0,939; p=0,192	p=0,023; p=0,019; p=0,104	p=0,465; p=0,326; p=0,081	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,172; p=0,127; p=0,009
1.3.2 (10 сутки) – контроль	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,078; p=0,061; p=0,020; p=0,087	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,003; p=0,003; p=0,001; p<0,001	p=0,425; p=0,298; p=0,038; p=0,130	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p=0,003; p=0,002
1.3.3 (30 сутки) – 1.3.5 (60 сутки)	p=0,913; p=0,727; p=0,236	p=0,999; p=0,967; p=0,953	p=0,034; p=0,028; p=0,004	p=0,002; p=0,002; p<0,001	p=0,986; p=0,879; p=0,136	p=0,204; p=0,148; p=0,001	p=0,026; p=0,022; p=0,001
1.3.3 (30 сутки) – контроль	p=0,010; p=0,009; p=0,002; p=0,002	p=0,542; p=0,381; p=0,046; p=0,281	p=0,157; p=0,116; p=0,036; p=0,066	p=0,020; p=0,017; p<0,001; p=0,065	p=0,001; p=0,001; p=0,001; p=0,004	p=0,001; p=0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=0,997; p=0,057; p=0,998
1.3.5 (60 сутки) – контроль	p=0,338; p=0,240; p=0,041; p=0,062	p=0,991; p=0,902; p=0,046; p=0,740	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,959; p=0,806; p=0,220; p=0,829	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,251; p=0,181; p=0,040; p=0,080	p=0,287; p=0,205; p=0,367; p=0,196

Примечание 1: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные фолликулы, ВРФ – вторичные фолликулы, ТРФ – третичные и зрелые фолликулы, РФ – растущие фолликулы (Σ ПРФ+ВРФ+ТРФ), АФ – атретические фолликулы и тела, ЖТ – желтые тела.

Примечание 2: Статистически значимые отличия помечены розовым цветом, неубедительные (хотя бы один тест значим) – желтым, критическое $p=0,0127$

Статистически значимые отличия имелись при сравнении среднего количества ПФ в контроле с таковыми на 2, 10 и 30-е ($p \leq 0,011$). Неубедительные данные значимости получены при сравнении на 10-е и 60-е сутки опыта (значимые Манна-Уитни, $p=0,009$ и незначимые остальными тестами $p \geq 0,028$). При остальных сравнениях существенных отличий указанными тестами не выявлено ($p \geq 0,034$).

Тестами T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла, U-критерием Манна-Уитни для РФ значимые сравнения выявлены между 2-и сутками и остальными точками опыта ($p \leq 0,004$), при этом на 2-е и 10-е сутки эксперимента количество РФ соответствовало значениям контроля ($p \geq 0,024$), а на 30-60-е оказывалось значимо ниже такового ($p \leq 0,004$).

Для ВРФ апостериорные тесты демонстрировали существенные отличия между 2-и и остальными точками опыта ($p \leq 0,004$), при этом только на 30-е сутки эксперимента количество ВРФ соответствовало значениям контроля ($p \geq 0,036$). На 10 и 60-е сутки опыта их количество оказывалось значимо ниже такового в контроле ($p < 0,001$), а на 30-е сутки получены неубедительные данные (значимые t-Даннетта, $p=0,001$ и незначимые остальными тестами $p \geq 0,070$).

Критериями T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла, U-Манна-Уитни показаны значимо более высокое количество ТРФ на 10-е сутки с таковым в контроле ($p \leq 0,003$), а также значимо более низкое количество ТРФ на 30-е сутки по сравнению с таковыми на 10-е и 60-е сутки ($p \leq 0,002$). Неубедительные данные значимости получены при сравнении на 2-е и 10-е сутки (значимые T2 Тамхейна, $p=0,008$, Геймса-Хоуэла, $p=0,007$ и незначимые Манна-Уитни $p=0,036$), на 2-е и 30-е сутки (значимые Манна-Уитни, $p < 0,001$ и незначимые остальными тестами $p \geq 0,022$), а также на 30-е сутки и в контроле (значимые Манна-Уитни, $p < 0,001$ и незначимые остальными тестами $p \geq 0,017$). Остальные сравнения для ТРФ оказывались несущественными ($p \geq 0,019$).

Post hoc сравнения показали значимо более низкое количество АФ на 2-10-30-е сутки опыта по сравнению с контролем ($p \leq 0,001$), на 60-е сутки эксперимента их количество соответствовало значениям контроля ($p \geq 0,040$).

Также значимо более низкое содержание АФ установлено на 10-е сутки по сравнению с таковым на 2-е и 60-е сутки ($p \leq 0,004$).

Критерии T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла, U-Манна-Уитни показали существенно более низкое количество ЖТ на 10-е сутки опыта по сравнению с контролем ($p \leq 0,003$), 2-и и 30-и сутками опыта ($p < 0,001$).

Далее было произведено изучение линейных взаимосвязей между ПФ, РФ, АФ и ЖТ на протяжении всего эксперимента (1.3.1.1-5), результаты представлены на рис. 3.3.4.7.

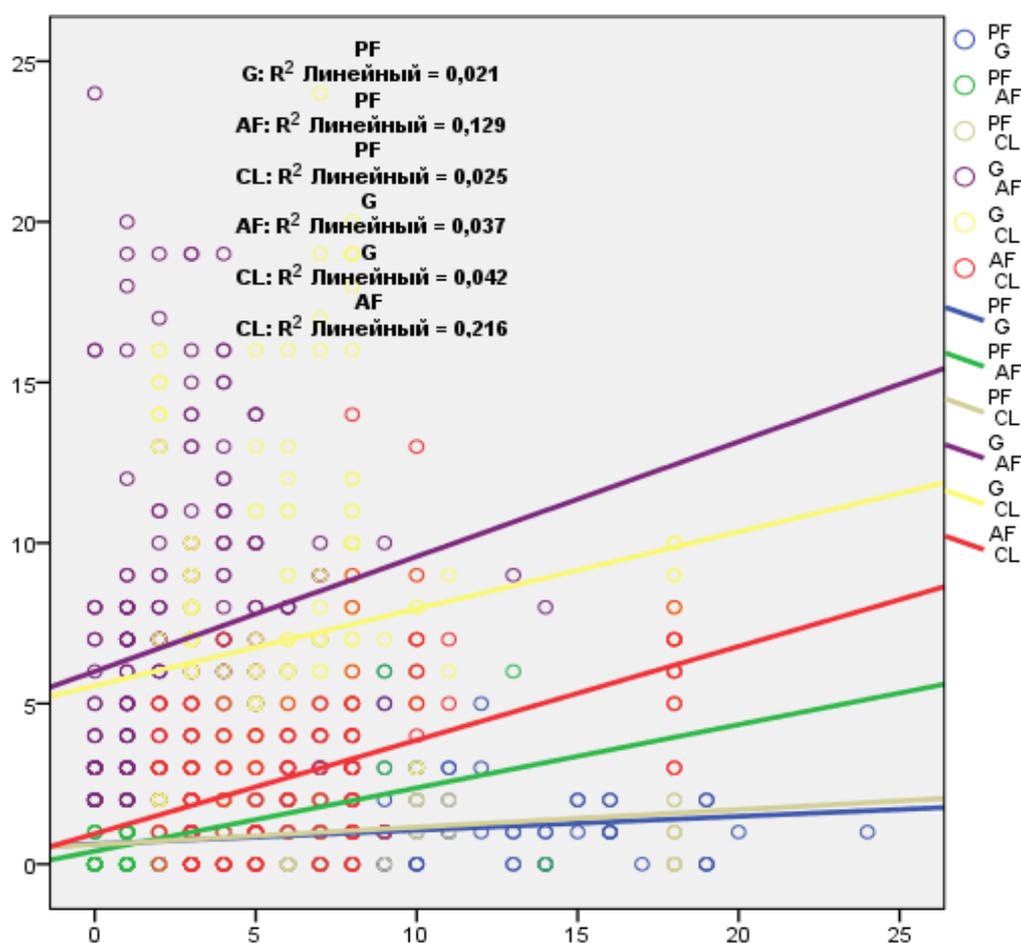


Рис. 3.3.4.7. Скаттерограмма с регрессионными прямыми для различных генеративных элементов у крыс после удаления яйцеводов

Каждым из исследованных методов (R Пирсона, ρ Спирмена и τ_b Кендалла) получены максимально значимые и значимые положительные корреляционные связи: слабые между ПФ и РФ ($r_p=0,146$, $p=0,022$; $r_s=0,205$, $p=0,001$; $\tau_b=0,160$, $p=0,002$, линейный $R^2=0,021$), ПФ и ЖТ ($r_p=0,158$, $p=0,013$; $r_s=0,197$, $p=0,002$;

$\tau_b=0,158$, $p=0,002$, линейный $R^2=0,025$), РФ и АФ ($r_p=0,192$, $p=0,002$; $r_s=0,342$, $p<0,001$; $\tau_b=0,258$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,037$), РФ и ЖТ ($r_p=0,205$, $p=0,001$; $r_s=0,295$, $p<0,001$; $\tau_b=0,237$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,042$) и средние между ПФ и АФ ($r_p=0,359$, $p<0,001$; $r_s=0,359$, $p<0,001$; $\tau_b=0,297$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,129$), ЖТ и АФ ($r_p=0,464$, $p<0,001$; $r_s=0,344$, $p<0,001$; $\tau_b=0,268$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,216$). Несущественных связей не было получено ни в одном случае.

Также установлены максимально значимые и очень значимые положительные корреляционные связи: слабая между ПРФ и ЖТ ($r_p=0,180$, $p=0,005$; $r_s=0,299$, $p<0,001$; $\tau_b=0,249$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,032$), средней силы между ВРФ и ЖТ ($r_p=0,311$, $p<0,001$; $r_s=0,334$, $p<0,001$; $\tau_b=0,245$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,097$) и отрицательная корреляционная связь между ТРФ и ЖТ ($r_p=-0,239$, $p<0,001$; $r_s=-0,238$, $p<0,001$; $\tau_b=-0,183$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,057$).

Сравнения генеративных элементов яичников у животных с удаленными маточными рогами, яйцеводами и после применения дегидроэпиандростерона (2.3-5, 1.4.1.3-5, контроль)

Тестами многомерной статистики показано, что 24,9% всей вариабельности ПФ, 27,0% – РФ, 21,7% – ПРФ, 9,1% – ВРФ, 23,0% – ТРФ, 1,2% – АФ, 11,1% – ЖТ обусловлено межгрупповыми различиями.

Следующим этапом работы стало сравнение количества генеративных элементов у животных после удаления маточных рогов, яйцеводов и после применения ДГЭА с таковыми у крыс без применения ДГЭА и в контроле.

Тестами Краскела-Уоллиса, ANOVA, Уэлча и Брауна-Форсайта показано, что при сравнении «2.3-5 – 1.4.1.3-5 – контроль» имелась значимая разница количества ПФ ($H=136,9$, $p<0,001$; $F_{6,491}=34,0$, $p<0,001$; $F=29,9$, $p<0,001$ и $F=30,8$; $p<0,001$), РФ ($H=86,6$, $p<0,001$; $F_{6,491}=21,3$, $p<0,001$; $F=25,0$, $p<0,001$ и $F=19,9$; $p<0,001$), ПРФ ($H=105,4$, $p<0,001$; $F_{6,491}=31,4$, $p<0,001$; $F=13,4$, $p<0,001$ и $F=23,1$; $p<0,001$), ВРФ ($H=60,8$, $p<0,001$; $F_{6,491}=10,686$, $p<0,001$; $F=13,7$, $p<0,001$ и $F=10,9$; $p<0,001$), ТРФ ($H=163,6$, $p<0,001$; $F_{6,491}=38,9$, $p<0,001$; $F=64,7$, $p<0,001$ и $F=32,8$; $p<0,001$), ЖТ ($H=119,3$, $p<0,001$; $F_{6,491}=23,5$, $p<0,001$; $F=29,7$, $p<0,001$ и $F=25,3$;

$p < 0,001$) и АФ ($H=196,9$, $p < 0,001$; $F_{6,491}=65,2$, $p < 0,001$; $F=41,5$, $p < 0,001$ и $F=77,4$; $p < 0,001$), соответственно.

Критерий Джонкхира-Терпстры кроме всего прочего демонстрировал однонаправленность изменений для каждого генеративного элемента: ПФ, ПРФ, ВРФ, ТРФ, РФ, АФ, ЖТ ($p < 0,001$).

Результаты *post hoc* тестов представлены в таблице 3.3.4.6. Для решения проблемы множественных сравнений установлен критический уровень значимости $p=0,017$ (для внутригрупповых сравнений 2.3-5), $p=0,0033$ (для сравнений 2.3-5 + 1.4.1.3-5 + контроль), учитывая наличие 15 методологически возможных парных сравнений.

Тестами Т2 Тамхейна, Т3 Даннетта, Геймса-Хоуэла, U- Манна-Уитни на 30-е сутки опыта показано статистически значимое увеличение среднего количества ПФ после применения ДГЭА при сравнении с таковыми в контроле и у животных только после операции ($p < 0,001$). На 40-е сутки количество ПФ оставалось выше значений контроля на 60% (значимо t-Даннетта, $p < 0,001$; незначимо остальными тестами, $p \geq 0,012$) и значимо выше такового у животных только после удаления маточных рогов и яйцеводов в 4 раза ($p < 0,001$). К окончанию эксперимента на 60-е сутки количество ПФ оказывалось не существенно ниже значений контроля – на 30% ($p \geq 0,063$), оставаясь значимо выше такового у крыс только после операции в 4 раза ($p < 0,001$).

Для РФ вышеуказанными апостериорными тестами показана аналогичная ПФ тенденция увеличения количества после ДГЭА в ранние сроки опыта с последующим снижением до значений контроля к окончанию эксперимента, но при этом остающейся выше значений у животных без применения добавки. На 30-е сутки количество РФ выше таковых в контроле на 40% и у животных только после операции на 50% ($p < 0,001$), на 40-е сутки соответствовало таковым ($p \geq 0,035$). На 60-е сутки применение ДГЭА демонстрировало тождественное контролю количество РФ ($p \geq 0,254$), оставаясь существенно выше значений у животных только после операции на 40% ($p < 0,001$).

Таблица 3.3.4.6. Апостериорные сравнения генеративных элементов в яичниках подопытных животных после удаления маточных рогов, яйцеводов, после применения ДГЭА (р, уровень значимости последовательно тестами Т2 Тамхейна, Геймса-Хоуэла, Манна-Уитни и двусторонний t-Даннетта

	ПФ	ПРФ	ВРФ	ТРФ	РФ	АФ	ЖТ
2.3 (30 сутки) – 2.4 (40 сутки)	p=0,257; p=0,169; p=0,003	p=0,006; p=0,005; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=0,979; p=0,526	p<0,001; p<0,001; p<0,001
2.3 (30 сутки) – 2.5 (60 сутки)	p<0,001 p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,068; p=0,050; p=0,004	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=1,000; p=0,702	p<0,001; p<0,001; p<0,001
2.3 (30 сутки) – 1.4.1.3 (30 сутки)	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=0,999; p=0,584	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=0,998; p=0,602	p=0,048; p=0,036; p=0,007
2.3 (30 сутки) – контроль	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=1,000; p=1,000; p=0,691; p=1,000	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,160; p=0,110; p=0,107; p=0,214
2.4 (40 сутки) – 2.5 (60 сутки)	p=0,001; p=0,001; p<0,001	p=0,851; p=0,597; p=0,228	p=0,526; p=0,341; p=0,012	p=1,000; p=0,989; p=0,033	p=0,993; p=0,865; p=0,250	p=0,987; p=0,833; p=0,710	p=1,000; p=1,000; p=0,611
2.4 (40 сутки) – 1.4.1.4 (40 сутки)	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,035; p=0,027; p=0,001	p=1,000; p=1,000; p=0,512	p=1,000; p=0,964; p=0,192	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001
2.4 (40 сутки) – контроль	p=0,219; p=0,147; p=0,012; p<0,001	p=0,094; p=0,067; p=0,014; p=0,005	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,318; p=0,207; p=0,064; p=0,027	p=0,425; p=0,274; p=0,035; p=0,063	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,031; p=0,025; p=0,001; p=0,001
2.5 (60 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,003; p=0,003; p<0,001	p=0,343; p=0,225; p=0,164	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,770; p=0,522; p=0,053	p<0,001; p<0,001; p<0,001
2.5 (60 сутки) – контроль	p=0,204; p=0,139; p=0,077; p=0,063	p=0,893; p=0,651; p=0,086; p=0,562	p=0,002; p=0,002; p<0,001; p<0,001	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,973; p=0,791; p=0,254; p=0,661	p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001	p=0,001; p=0,001; p<0,001; p<0,001

Примечание 1: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные фолликулы, ВРФ – вторичные фолликулы, ТРФ – третичные и зрелые фолликулы, РФ – растущие фолликулы (Σ ПРФ+ВРФ+ТРФ), АФ – атретические фолликулы и тела, ЖТ – желтые тела.

Примечание 2: Статистически значимые отличия помечены розовым цветом, неубедительные (хотя бы один тест значим) – желтым, критическое $p=0,0033$

Тесты T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла, U-критерий Манна-Уитни для ПРФ демонстрировали равнозначные общему количеству РФ результаты сравнений. На 30-е сутки количество ПРФ значимо выше таковых в контроле на 75% ($p < 0,001$) и у животных только после операции на 85% ($p < 0,001$), на 40-е и 60-е сутки соответствовало таковым в контроле ($p \geq 0,005$ и $p \geq 0,086$, соответственно), оставаясь существенно выше значений у животных без применения добавки на 70% ($p < 0,001$) и 55% ($p \leq 0,003$), соответственно.

Для ВРФ вышеуказанными апостериорными тестами показано отсутствие значимого изменения их количества на 30-е сутки по сравнению с контролем и у животных только после операции ($p \geq 0,691$ и $p \geq 0,584$, соответственно). Однако, установлены существенное снижение ВРФ на 40-е и 60-е сутки по сравнению с контролем ($p < 0,001$ и $p \leq 0,002$, соответственно), неубедительные данные значимости при сравнении с таковым у крыс без применения ДГЭА на 40-е сутки (значимое Манна-Уитни, $p = 0,001$; незначимое остальными тестами, $p \geq 0,027$).

Тесты T2 Тамхейна, T3 Даннетта, Геймса-Хоуэла, U-критерий Манна-Уитни для ТРФ демонстрировали равнозначные общему количеству РФ результаты сравнений. На 30-е сутки количество ТРФ значимо выше таковых в контроле в 3 раза ($p < 0,001$) и у животных только после операции в 9 раз ($p < 0,001$), на 40-е сутки соответствовало таковым ($p \geq 0,027$ и $p \geq 0,512$, соответственно). На 60-е сутки количество ТРФ вновь становилось существенно выше таковых в контроле на 55% ($p < 0,001$) и у животных только после операции в 3 раза ($p < 0,001$).

Post hoc тесты для АФ показали значимо более низкое их количество после применения ДГЭА (на 80-85% ниже) во все сроки опыта (30-40-60-е сутки) по сравнению с контролем ($p < 0,001$). Только на 40-е сутки эксперимента количество АФ после применения прогормона оказывалось ниже аналогичного значения у животных после удаления маточных рогов и яйцеводов ($p < 0,001$). Остальные сравнения количества АФ между точками 2.3 и 1.4.1.3, 2.5 и 1.4.1.5, соответственно, оказывались несущественными ($p \geq 0,053$).

Апостериорными тестами показано отсутствие значимой разницы количества ЖТ на 30-е сутки опыта после применения ДГЭА по сравнению с таковыми в контроле ($p \geq 0,007$) и у животных без применения прогормона ($p \geq 0,107$). На 40-е сутки эксперимента их количество превышало таковые у контрольных крыс на 25% (значимо t-Даннетта и Манна-Уитни, $p = 0,001$; незначимо остальными тестами, $p \geq 0,025$), существенно у животных только после удаления маточных рогов и яйцеводов на 70% ($p < 0,001$). К окончанию эксперимента на 60-е сутки количество ЖТ оказывалось значимо выше значений контроля и у крыс только после операции на 30-45% ($p \leq 0,001$).

Далее было произведено изучение линейных взаимосвязей между ПФ, РФ, АФ и ЖТ на протяжении всего эксперимента (2.3-5), результаты представлены на рис. 3.3.4.8.

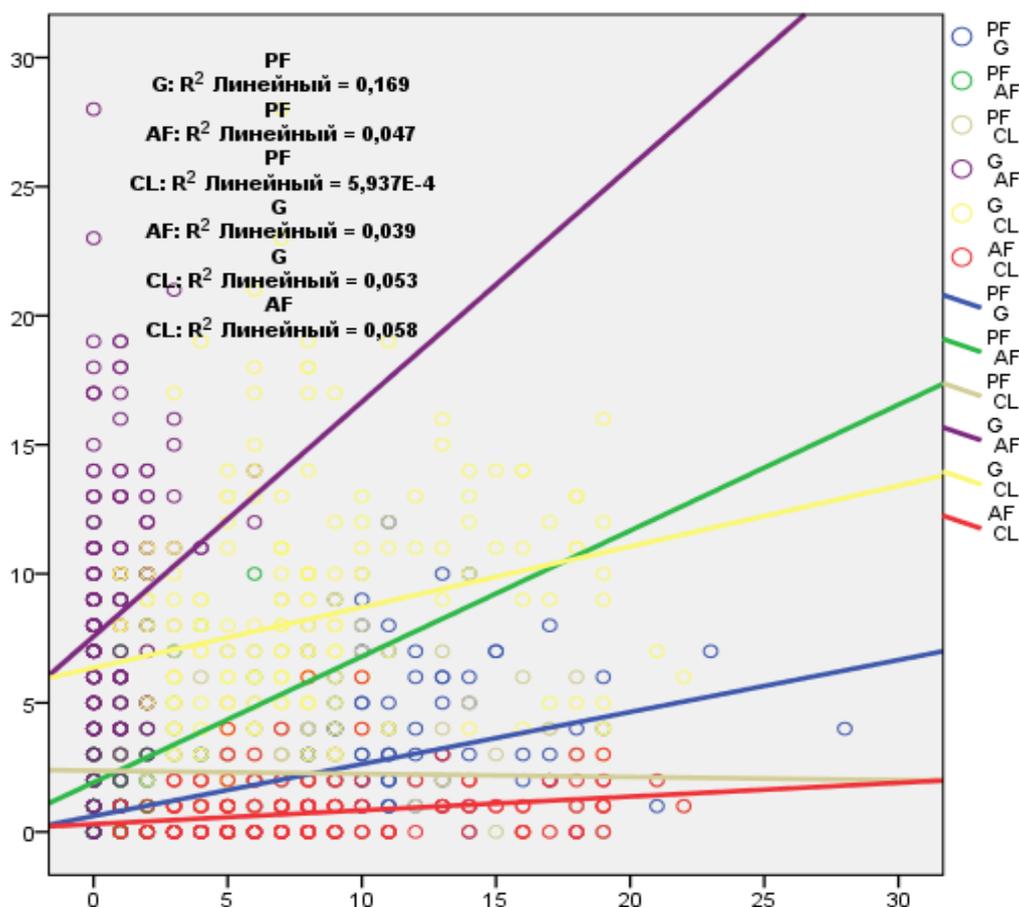


Рис. 3.3.4.8. Скаттерограмма с регрессионными прямыми для различных генеративных элементов у крыс после удаления маточных рогов, яйцеводов и применения ДГЭА

Каждым из исследованных методов (R Пирсона, ρ Спирмена и τ_b Кендалла) получены максимально значимые и очень значимые положительные корреляционные связи: средние между ПФ и РФ ($r_p=0,411$, $p<0,001$; $r_s=0,446$, $p<0,001$; $\tau_b=0,334$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,169$) и слабые между РФ и АФ ($r_p=0,197$, $p=0,007$; $r_s=0,198$, $p=0,006$; $\tau_b=0,158$, $p=0,007$, линейный $R^2=0,039$), РФ и ЖТ ($r_p=0,230$, $p=0,001$; $r_s=0,309$, $p<0,001$; $\tau_b=0,214$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,053$), АФ и ЖТ ($r_p=0,240$, $p=0,001$; $r_s=0,283$, $p<0,001$; $\tau_b=0,22$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,058$). Неубедительные корреляционные связи получены между ПФ и АФ ($r_p=0,216$, $p=0,003$; $r_s=0,099$, $p=0,177$; $\tau_b=0,082$, $p=0,176$, линейный $R^2=0,047$). Несущественными оказывались связи между ПФ и ЖТ ($r_p=-0,024$, $p=0,739$; $r_s=-0,032$, $p=0,663$; $\tau_b=-0,026$, $p=0,635$, линейный $R^2=5,937E-4$).

Также установлены максимально значимые и очень значимые положительные корреляционные связи: слабые между ВРФ и ЖТ ($r_p=0,242$, $p=0,001$; $r_s=0,333$, $p<0,001$; $\tau_b=0,239$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,059$), ТРФ и ЖТ ($r_p=0,208$, $p=0,0041$; $r_s=0,216$, $p=0,003$; $\tau_b=0,160$, $p=0,004$, линейный $R^2=0,043$), ПФ и ПРФ ($r_p=0,288$, $p<0,001$; $r_s=0,330$, $p<0,001$; $\tau_b=0,263$, $p<0,001$, линейный $R^2=0,083$).

Для изучения межтканевых взаимоотношений и роли определённых структурных компонентов в реализации тканевых механизмов биологического действия проводимых экспериментальных воздействий, их последствий исследовали динамику удельного объема основных структурно-тканевых элементов яичников с помощью сетки Автандилова. Учитывая результаты морфоколичественного анализа генеративных элементов, наиболее интересным представлялась динамика удельного объёма в группах животных с удалёнными маточными рогами и яйцеводами (1.4.1.1-5), а также после применения ДГЭА (2.3-5), результаты исследования которой представлены в таблице 3.3.4.7.

Таблица 3.3.4.7. Динамика удельного объёма основных структурно-тканевых элементов в яичниках подопытных животных в течение 60 суток (M±SE; ±SD)

	овоцит	ZP	Cum	гранулёза	фол. полость	вн. тека	нар. тека
Основная^{1.4.1.1} (2 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,005±0,002; ±0,012	0,003±0,001; ±0,009	0,003±0,002; ±0,014	0,055±0,014; ±0,105	0,008±0,004; ±0,033	0,006±0,002; ±0,018	0,017±0,004; ±0,033
Основная^{1.4.1.2} (10 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,003±0,002; ±0,011	0,002±0,001; ±0,010	0,003±0,002; ±0,012	0,064±0,015; ±0,103	0,031±0,014; ±0,097	0,012±0,004; ±0,028	0,016±0,005; ±0,037
Основная^{1.4.1.3} (30 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,001±0,001; ±0,004	0,008±0,005; ±0,036	0	0,064±0,018; ±0,127	0,036±0,014; ±0,100	0,007±0,003; ±0,018	0,016±0,005; ±0,034
Основная^{1.4.1.4} (40 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,003±0,001; ±0,009	0,011±0,006; ±0,050	0,004±0,002; ±0,017	0,072±0,015; ±0,116	0,049±0,015; ±0,118	0,007±0,003; ±0,022	0,025±0,005; ±0,040
Основная^{1.4.1.5} (60 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,004±0,002; ±0,013	0	0,001±0,001; ±0,008	0,067±0,015; ±0,118	0,085±0,022; ±0,172	0,007±0,002; ±0,018	0,018±0,004; ±0,033
Группа сравнения^{2.3} (30 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	0,005±0,002; ±0,012	0,003±0,002; ±0,010	0,002±0,002; ±0,011	0,146±0,029; ±0,159	0,087±0,036; ±0,196	0,027±0,008; ±0,041	0,028±0,007; ±0,039
Группа сравнения^{2.4} (40 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	0,001±0,001; ±0,004	0,016±0,015; ±0,106	0,001±0,001; ±0,006	0,083±0,025; ±0,174	0,052±0,014; ±0,125	0,014±0,005; ±0,035	0,018±0,005; ±0,034
Группа сравнения^{2.5} (60 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	0,002±0,001; ±0,008	0,003±0,001; ±0,013	0,003±0,002; ±0,015	0,084±0,014; ±0,123	0,039±0,014; ±0,096	0,010±0,003; ±0,024	0,027±0,005; ±0,048
Контроль³ (усреднённые данные)	0,002±0,001; ±0,007	0,026±0,012; ±0,112	0,002±0,001; ±0,010	0,077±0,013; ±0,128	0,038±0,010; ±0,093	0,009±0,003; ±0,025	0,026±0,004; ±0,041
	РФ	АФ	ЖТ	строма	сосуды	артерии	вены
Основная^{1.4.1.1} (2 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,065±0,014; ±0,112	0,029±0,006; ±0,050	0,309±0,047; ±0,361	0,546±0,041; ±0,320	0,052±0,011; ±0,086	0,022±0,008; ±0,062	0,029±0,007; ±0,054
Основная^{1.4.1.2} (10 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,090±0,021; ±0,152	0,039±0,009; ±0,065	0,407±0,058; ±0,410	0,419±0,052; ±0,371	0,046±0,009; ±0,065	0,019±0,006; ±0,041	0,027±0,006; ±0,041
Основная^{1.4.1.3} (30 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,102±0,024; ±0,169	0,029±0,007; ±0,048	0,408±0,058; ±0,409	0,408±0,048; ±0,339	0,053±0,010; ±0,074	0,008±0,003; ±0,020	0,046±0,009; ±0,066
Основная^{1.4.1.4} (40 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,067±0,012; ±0,091	0,100±0,018; ±0,137	0,240±0,041; ±0,321	0,531±0,041; ±0,316	0,062±0,008; ±0,064	0,015±0,004; ±0,032	0,047±0,007; ±0,053
Основная^{1.4.1.5} (60 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+)	0,088±0,018; ±0,139	0,092±0,019; ±0,144	0,398±0,056; ±0,432	0,356±0,042; ±0,323	0,066±0,013; ±0,098	0,016±0,005; ±0,039	0,050±0,011; ±0,082
Группа сравнения^{2.3} (30 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	0,272±0,051; ±0,278	0,024±0,004; ±0,024	0,149±0,049; ±0,267	0,490±0,055; ±0,300	0,065±0,016; ±0,086	0,014±0,004; ±0,023	0,051±0,012; ±0,023
Группа сравнения^{2.4} (40 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	0,127±0,028; ±0,196	0,039±0,009; ±0,062	0,323±0,052; ±0,371	0,437±0,046; ±0,326	0,076±0,017; ±0,120	0,024±0,012; ±0,085	0,053±0,010; ±0,072
Группа сравнения^{2.5} (60 сутки) удаление маточных рогов и яйцеводов (ЭХ+) + ДГЭА	0,143±0,024; ±0,219	0,036±0,006; ±0,055	0,321±0,041; ±0,370	0,433±0,036; ±0,326	0,068±0,010; ±0,088	0,007±0,002; ±0,017	0,061±0,009; ±0,072
Контроль³ (усреднённые данные)	0,138±0,020; ±0,189	0,039±0,006; ±0,053	0,251±0,038; ±0,362	0,516±0,036; ±0,337	0,056±0,007; ±0,070	0,016±0,004; ±0,034	0,041±0,006; ±0,055

Примечание: ZP – zona pellucida, Cum – cumulus oophorus, РФ – растущие фолликулы, АФ – атретические фолликулы и кисты, ЖТ – желтые тела.

Сравнения удельного объёма основных структурно-тканевых элементов яичников у животных с электрохирургическим удалением маточных рогов и яйцеводов (1.4.1.1-5, контроль)

В яичниках ложнооперированных животных удельный объём всех форм фолликулов в срезе составлял 18%, ЖТ – 25%, стромы – 52%, сосудов – 6% (артерий – 2%, вен – 4%). Овоцит занимал только 0,2% удельного объёма, зона pellucida – 3%, эпителиоциты яйценосного бугорка – 0,2%, фолликулярная полость – 4%. Соматический компонент фолликула – около 12% (эпителиоциты зернистого слоя – 8%, внутренний слой теки – 1%, наружный слой теки – 3%).

Тестами Краскела-Уоллиса и ANOVA показано, что имела место значимая разница удельного объёма фолликулярной полости ($H=14,3$, $p=0,006$; $F_{4,275}=3,6$, $p=0,007$) и стромы ($H=14,1$, $p=0,007$; $F_{4,275}=3,6$, $p=0,007$), соответственно. 5% всей вариабельности удельного объёма фолликулярных полостей и 5% – стромы обусловлено межгрупповыми различиями. Неубедительные данные значимости (хотя бы один тест значим) получены для удельного объёма АФ ($H=8,7$, $p=0,069$; $F_{4,275}=7,1$, $p<0,001$), ЖТ ($H=5,2$, $p=0,263$; $F_{4,275}=2,2$, $p=0,073$) и овоцитов ($H=7,0$, $p=0,137$; $F_{4,275}=1,3$, $p=0,265$), соответственно. Для остальных структурно-тканевых элементов яичников значимой динамики удельного объёма не установлено: зона pellucida ($H=5,6$, $p=0,227$; $F_{4,275}=1,5$, $p=0,191$), эпителиоциты яйценосного бугорка ($H=4,5$, $p=0,344$; $F_{4,275}=1,0$, $p=0,424$), гранулёза ($H=1,7$, $p=0,782$; $F_{4,275}=0,20$, $p=0,949$), внутренний слой теки ($H=1,8$, $p=0,774$; $F_{4,275}=0,7$, $p=0,608$), наружная тека ($H=4,5$, $p=0,348$; $F_{4,275}=0,6$, $p=0,687$), РФ ($H=1,0$, $p=0,917$; $F_{4,275}=0,8$, $p=0,515$), сосуды ($H=3,9$, $p=0,417$; $F_{4,275}=0,6$, $p=0,671$), артерии ($H=2,3$, $p=0,674$; $F_{4,275}=0,9$, $p=0,445$), вены ($H=9,0$, $p=0,062$; $F_{4,275}=1,7$, $p=0,150$).

Следующим этапом работы стало сравнение удельного объёма основных структурно-тканевых элементов яичников у животных после удаления маточных рогов и яйцеводов с таковыми у ложнооперированных животных.

Тестами Краскела-Уоллиса и ANOVA показано, что имеет место значимая разница удельного объёма фолликулярной полости ($H=14,4$, $p=0,013$; $F_{5,364}=3,2$,

$p=0,008$), стромы ($H=16,0$, $p=0,007$; $F_{5,364}=3,3$, $p=0,006$) и ЖТ ($H=11,4$, $p=0,044$; $F_{5,364}=2,7$, $p=0,022$), соответственно. Неубедительные данные значимости (хотя бы один тест значим) получены для удельного объёма АФ ($H=10,1$, $p=0,074$; $F_{5,364}=7,5$, $p<0,001$), РФ ($H=8,6$, $p=0,127$; $F_{5,364}=2,5$, $p=0,032$) и овоцитов ($H=9,0$, $p=0,110$; $F_{5,364}=1,5$, $p=0,181$), соответственно. Для остальных структурно-тканевых элементов яичников значимой динамики удельного объёма не установлено: zona pellucida ($H=10,9$, $p=0,054$; $F_{5,364}=1,9$, $p=0,094$), эпителиоциты яйценосного бугорка ($H=4,4$, $p=0,490$; $F_{5,364}=0,8$, $p=0,527$), гранулёза ($H=2,9$, $p=0,714$; $F_{5,364}=0,3$, $p=0,924$), внутренний слой теки ($H=1,9$, $p=0,869$; $F_{5,364}=0,5$, $p=0,759$), наружный слой теки ($H=7,1$, $p=0,212$; $F_{5,364}=1,1$, $p=0,383$), сосуды ($H=4,0$, $p=0,545$; $F_{5,364}=0,5$, $p=0,778$), артерии ($H=2,6$, $p=0,769$; $F_{5,364}=0,8$, $p=0,538$), вены ($H=9,2$, $p=0,102$; $F_{5,364}=1,4$, $p=0,214$), соответственно.

Таким образом, удельный объём овоцитов, zona pellucida, фолликулярных эпителиоцитов яйценосного бугорка, гранулёзы, обоих слоёв теки, сосудов после удаления маточных рогов и яйцеводов значимо не менялся. Это могло быть обусловлено несколькими причинами. Во-первых, указанные структуры и ткани яичников обеспечивали гомеостаз. Описанное выше повреждение структурно-тканевых элементов после операции без прямого воздействия на гонады, вероятно, являлось сбалансированным. Во-вторых, структуры занимали незначительный удельный объём яичников (часто не превышающий 1%), поэтому динамические изменения могли быть трудноуловимыми. Таблица 3.3.4.7 наглядно показывала тенденцию изменения удельного объёма. В сравнении с контролем отмечалось снижение удельных объёмов zona pellucida, гранулёзы, обоих слоёв теки, вен, увеличение удельных объёмов овоцитов, эпителиоцитов яйценосного бугорка, артерий в ранние сроки после операции.

Для структурно-тканевых элементов яичников, имеющих статистически значимую динамику удельных объёмов методами многомерной статистики, проводились post hoc тесты, представленные в таблице 3.3.4.8. Для решения проблемы множественных сравнений установлен критический уровень значимости $p=0,0051$ (учитывая наличие 10 возможных парных сравнений).

Таблица 3.3.4.8. Апостериорные сравнения удельного объёма основных структурно-тканевых элементов яичников подопытных животных после удаления маточных рогов и яйцеводов (р, уровень значимости последовательно тестами Т2 Тамхейна, Геймса-Хоуэла, Манна-Уитни и двусторонний t-Даннетта

	фол. полость	строма	овоцит	РФ	АФ	ЖТ
1.4.1.1 (2 сутки) – 1.4.1.2 (10 сутки)	p=0,844; p=0,606; p=0,195	p=0,604; p=0,406; p=0,084	p=0,998; p=0,935; p=0,194	p=0,997; p=0,922; p=0,941	p=1,000; p=0,957; p=0,946	p=0,958; p=0,775; p=0,407
1.4.1.1 (2 сутки) – 1.4.1.3 (30 сутки)	p=0,661; p=0,444; p=0,066	p=0,386; p=0,259; p=0,039	p=0,094; p=0,069; p=0,011	p=0,950; p=0,756; p=0,582	p=1,000; p=1,000; p=0,952	p=0,955; p=0,769; p=0,420
1.4.1.1 (2 сутки) – 1.4.1.4 (40 сутки)	p=0,173; p=0,121; p=0,007	p=1,000; p=1,000; p=0,881	p=0,994; p=0,892; p=0,285	p=1,000; p=1,000; p=0,416	p=0,004; p=0,004; p=0,017	p=0,991; p=0,876; p=0,226
1.4.1.1 (2 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p=0,019; p=0,015; p<0,001	p=0,023; p=0,019; p=0,002	p=1,000; p=0,983; p=0,200	p=0,996; p=0,908; p=0,642	p=0,031; p=0,025; p=0,223	p=0,976; p=0,820; p=0,662
1.4.1.1 (2 сутки) – контроль	p=0,104; p=0,077; p=0,011; p=0,391	p=1,000; p=0,994; p=0,720; p=0,982	p=0,487; p=0,324; p=0,027; p=0,144	p=0,050; p=0,039; p=0,014; p=0,016	p=0,988; p=0,862; p=0,109; p=0,962	p=0,998; p=0,931; p=0,060; p=0,862
1.4.1.2 (10 сутки) – 1.4.1.3 (30 сутки)	p=1,000; p=1,000; p=0,618	p=1,000; p=1,000; p=0,931	p=0,917; p=0,698; p=0,168	p=1,000; p=0,999; p=0,588	p=0,999; p=0,956; p=0,966	p=1,000; p=1,000; p=0,958
1.4.1.2 (10 сутки) – 1.4.1.4 (40 сутки)	p=0,999; p=0,954; p=0,191	p=0,771; p=0,539; p=0,087	p=1,000; p=1,000; p=0,745	p=0,998; p=0,932; p=0,477	p=0,038; p=0,030; p=0,025	p=0,273; p=0,186; p=0,047
1.4.1.2 (10 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p=0,482; p=0,321; p=0,033	p=0,998; p=0,935; p=0,424	p=1,000; p=1,000; p=0,935	p=1,000; p=1,000; p=0,708	p=0,167; p=0,118; p=0,196	p=1,000; p=1,000; p=0,911
1.4.1.2 (10 сутки) – контроль	p=1,000; p=0,999; p=0,277; p=0,998	p=0,875; p=0,646; p=0,171; p=0,363	p=1,000; p=0,970; p=0,556; p=0,911	p=0,813; p=0,581; p=0,039; p=0,267	p=1,000; p=1,000; p=0,141; p=1,000	p=0,342; p=0,230; p=0,017; p=0,091
1.4.1.3 (30 сутки) – 1.4.1.4 (40 сутки)	p=1,000; p=0,988; p=0,441	p=0,560; p=0,375; p=0,043	p=0,673; p=0,457; p=0,088	p=0,955; p=0,766; p=0,797	p=0,005; p=0,004; p=0,024	p=0,265; p=0,181; p=0,055
1.4.1.3 (30 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p=0,632; p=0,427; p=0,090	p=1,000; p=0,962; p=0,406	p=0,778; p=0,543; p=0,143	p=1,000; p=0,997; p=0,822	p=0,032; p=0,025; p=0,246	p=1,000; p=1,000; p=0,893
1.4.1.3 (30 сутки) – контроль	p=1,000; p=1,000; p=0,607; p=1,000	p=0,688; p=0,470; p=0,078; p=0,263	p=0,989; p=0,868; p=0,321; p=0,963	p=0,988; p=0,864; p=0,125; p=0,562	p=0,988; p=0,864; p=0,125; p=0,968	p=0,333; p=0,224; p=0,019; p=0,089
1.4.1.4 (40 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p=0,954; p=0,766; p=0,326	p=0,047; p=0,037; p=0,002	p=1,000; p=1,000; p=0,801	p=0,997; p=0,917; p=0,752	p=1,000; p=0,999; p=0,435	p=0,307; p=0,208; p=0,118
1.4.1.4 (40 сутки) – контроль	p=1,000; p=0,988; p=0,729; p=0,966	p=1,000; p=1,000; p=0,861; p=0,999	p=0,998; p=0,927; p=0,308; p=0,891	p=0,038; p=0,031; p=0,084; p=0,021	p=0,021; p=0,017; p=0,147; p<0,001	p=1,000; p=1,000; p=0,509; p=1,000
1.4.1.5 (60 сутки) – контроль	p=0,569; p=0,380; p=0,147; p=0,044	p=0,060; p=0,047; p=0,004; p=0,020	p=0,995; p=0,904; p=0,478; p=0,698	p=0,643; p=0,437; p=0,064; p=0,187	p=0,115; p=0,083; p=0,939; p=0,003	p=0,383; p=0,257; p=0,031; p=0,091

Примечание 1: РФ – растущие фолликулы (Σ ПРФ+ВРФ+ТРФ), АФ – атретические фолликулы и тела, ЖТ – желтые тела.

Примечание 2: Статистически значимые отличия помечены розовым цветом, неубедительные (хотя бы один тест значим) – желтым, критическое p=0,0051

Удельный объём фолликулярных полостей после удаления маточных рогов и яйцеводов в течение 60 суток наблюдения увеличивался с 0,8% до 8,5%, что, вероятно, обусловлено формированием фолликулярных кист. Статистически значимые различия выявлялись только при сравнении удельных объёмов на 2-е и 60-е сутки опыта ($p < 0,001$ тестом Манна-Уитни). Существенных отличий при сравнении с контролем ни в одной точке эксперимента не установлено (удельный объём фолликулярных полостей в контроле – 3,8%). Удельный объём стромального компонента изменялся более динамично. К окончанию опыта (60-е сутки) значимо снижался на 30-35% (35,6%) по сравнению с таковыми на 2-е сутки эксперимента (54,6%) и контроле (51,6%) ($p = 0,002$ и $p = 0,004$ критерием Манна-Уитни, соответственно). Существенных изменений удельных объёмов РФ и ЖТ не выявлено ни одним из методов ($p \geq 0,014$), что в целом не противоречило значимым результатам снижения количества данных генеративных элементов. С увеличением срока эксперимента после удаления маточных рогов и яйцеводов также увеличивалось количество фолликулов с начальными признаками кистозной трансформации и кистозных ЖТ (результаты описательной морфологии, данные предыдущих сравнений, значимое увеличение удельного объёма фолликулярных полостей). Данные результаты не могли быть соотнесены с компенсаторным механизмом гомеостаза яичников. Дополнительным аргументом в пользу повреждения генеративного аппарата яичников после оперативного лечения являлось значимое увеличение удельного объёма АФ в 2,4-2,5 раза к 30-60-м суткам опыта (10,0% и 9,2%, соответственно) по сравнению с таковым в контроле (3,9%) ($p \leq 0,001$ и $p = 0,003$ критерием t-Даннетта, соответственно).

Сравнения удельного объёма основных структурно-тканевых элементов яичников у животных с удаленными маточными рогами, яйцеводами, а также после применения дегидроэпиандростерона (2.3-5, 1.4.1.3-5, контроль)

Тестами Краскела-Уоллиса и ANOVA показано, что имеет место значимая разница удельного объёма РФ ($H=15,6$, $p=0,016$; $F_{6,413}=4,9$, $p<0,001$), ЖТ ($H=13,0$, $p=0,042$; $F_{6,413}=2,8$, $p=0,010$) и стромы ($H=14,2$, $p=0,027$; $F_{6,413}=2,3$, $p=0,034$), соответственно. Неубедительные данные значимости (хотя бы один тест значим) получены для удельного объёма внутреннего слоя теки ($H=11,9$, $p=0,065$; $F_{6,413}=2,8$, $p=0,012$) и АФ ($H=7,2$, $p=0,304$; $F_{6,413}=7,3$, $p<0,001$), соответственно. Для остальных структурно-тканевых элементов яичников существенной динамики удельного объёма не установлено: овоцит ($H=7,3$, $p=0,291$; $F_{6,413}=1,4$, $p=0,229$), zona pellucida ($H=11,2$, $p=0,083$; $F_{6,413}=1,3$, $p=0,257$), эпителиоциты яйценосного бугорка ($H=4,4$, $p=0,624$; $F_{6,413}=0,8$, $p=0,582$), гранулёза ($H=12,0$, $p=0,062$; $F_{6,413}=1,5$, $p=0,175$), наружный слой теки ($H=5,8$, $p=0,445$; $F_{6,413}=0,9$, $p=0,480$), сосуды ($H=2,7$, $p=0,841$; $F_{6,413}=0,5$, $p=0,838$), артерии ($H=7,0$, $p=0,316$; $F_{6,413}=1,1$, $p=0,346$), вены ($H=3,2$, $p=0,788$; $F_{6,413}=0,6$, $p=0,696$), соответственно.

Таким образом, удельный объём овоцитов, zona pellucida, эпителиоцитов яйценосного бугорка, гранулёзы, наружного слоя теки, сосудов после удаления маточных рогов, яйцеводов и применения ДГЭА значимо не менялся. Причины, лежащие в основе отсутствия изменений, аналогичны таковым при описании результатов сравнений у животных без использования ДГЭА – минимальный удельный объём и умеренная выборка.

Для структурно-тканевых элементов яичников, имеющих статистически значимую динамику удельных объёмов методами многомерной статистики, проводились post hoc тесты, представленные в таблице 3.3.4.9. Для решения проблемы множественных сравнений установлен критический уровень значимости $p=0,017$ (для внутригрупповых сравнений 2.3-5), $p=0,0033$ (для сравнений 2.3-5 + 1.4.1.3-5 + контроль), учитывая наличие 15 методологически возможных парных сравнений.

Таблица 3.3.4.9. Апостериорные сравнения удельного объёма основных структурно-тканевых элементов яичников подопытных животных после удаления маточных рогов и яйцеводов (р, уровень значимости последовательно тестами Т2 Тамхейна, Геймса-Хоуэла, Манна-Уитни и двусторонний t-Даннетта

	внутренний слой теки	строма	РФ	АФ	ЖТ
2.3 (30 сутки) – 2.4 (40 сутки)	p=0,966; p=0,762; p=0,086	p=1,000; p=0,989; p=0,455	p=0,285; p=0,182; p=0,010	p=0,919; p=0,679; p=0,530	p=0,311; p=0,202; p=0,067
2.3 (30 сутки) – 2.5 (60 сутки)	p=0,602; p=0,375; p=0,030	p=1,000; p=0,976; p=0,359	p=0,441; p=0,274; p=0,022	p=0,916; p=0,679; p=0,603	p=0,175; p=0,119; p=0,039
2.3 (30 сутки) – 1.4.1.3 (30 сутки)	p=0,295; p=0,184; p=0,011	p=0,998; p=0,918; p=0,249	p=0,087; p=0,061; p=0,004	p=1,000; p=0,995; p=0,191	p=0,021; p=0,017; p=0,012
2.3 (30 сутки) – контроль	p=0,455; p=0,280; p=0,004; p=0,005	p=1,000; p=1,000; p=0,713; p=0,999	p=0,330; p=0,206; p=0,025; p=0,004	p=0,524; p=0,338; p=0,738; p=0,933	p=0,901; p=0,652; p=0,558; p=0,655
2.4 (40 сутки) – 2.5 (60 сутки)	p=1,000; p=0,995; p=0,810	p=1,000; p=1,000; p=0,962	p=1,000; p=0,999; p=0,458	p=1,000; p=1,000; p=0,664	p=1,000; p=1,000; p=0,994
2.4 (40 сутки) – 1.4.1.4 (40 сутки)	p=0,998; p=0,913; p=0,321	p=0,944; p=0,725; p=0,091	p=0,660; p=0,427; p=0,742	p=0,053; p=0,040; p=0,054	p=0,994; p=0,872; p=0,333
2.4 (40 сутки) – контроль	p=1,000; p=0,970; p=0,309; p=0,788	p=0,984; p=0,826; p=0,184; p=0,610	p=1,000; p=1,000; p=0,285; p=0,999	p=1,000; p=1,000; p=0,385; p=1,000	p=0,999; p=0,925; p=0,171; p=0,799
2.5 (60 сутки) – 1.4.1.5 (60 сутки)	p=1,000; p=0,963; p=0,504	p=0,978; p=0,805; p=0,132	p=0,802; p=0,551; p=0,192	p=0,108; p=0,076; p=0,619	p=0,998; p=0,921; p=0,412
2.5 (60 сутки) – контроль	p=1,000; p=1,000; p=0,378; p=0,999	p=0,904; p=0,665; p=0,110; p=0,407	p=1,000; p=1,000; p=0,682; p=1,000	p=1,000; p=1,000; p=0,400; p=1,000	p=0,995; p=0,881; p=0,081; p=0,719

Примечание 1: РФ – растущие фолликулы (Σ ПРФ+ВРФ+ТРФ), АФ – атретические фолликулы и тела, ЖТ – желтые тела.

Примечание 2: Статистически значимые отличия помечены розовым цветом, неубедительные (хотя бы один тест значим) – желтым, критическое $p=0,017$

В соответствии с таблицей 3.3.4.7 удельный объём стромы после удаления маточных рогов, яйцеводов и применения ДГЭА ниже значений контроля на 5-16% в каждую точку эксперимента, но выше аналогичных значений у животных без применения прогормона на 17-18%, однако несущественно ($p \geq 0,091$). Более наглядно менялся удельный объём внутреннего слоя теки. В ранние сроки после окончания применения ДГЭА (30-е сутки) он (2,7%) значимо (тест Манна-Уитни) выше таковых в 3 раза у контрольных крыс (0,9%, $p=0,004$) и почти в 4 раза у животных без применения ДГЭА (0,7%, $p=0,011$). Данные изменения, вероятно, обусловлены текоматозом стромы. В дальнейшем удельный объём внутреннего слоя теки планомерно снижался (до 1%), при этом оставался всё же выше значений контроля на 10%, хотя и незначимо ($p \geq 0,378$).

Согласно таблице 3.3.4.7 удельный объём АФ после оперативного лечения и применения ДГЭА к окончанию эксперимента (3,9% на 40-е сутки и 3,6% на 60-е сутки) соответствовал значениям контроля (3,9%; $p \geq 0,385$ и $p \geq 0,400$, соответственно). В указанные сроки опыта он ниже таковых у животных только после операции в 2,6 раз (10% и 9,2%, соответственно), однако не значимо ($p \geq 0,040$ и $p \geq 0,076$, соответственно). Что в целом могло свидетельствовать о некотором замедлении процесса атрезии после применения прогормона. Удельный объём РФ после операции и применения ДГЭА, наоборот, повышался в ранние сроки после окончания введения добавки (27,2% на 30-е сутки) по сравнению с таковыми в контроле в 2 раза (13,8%; $p=0,004$, t-Даннетта) и у животных только после операции в 2,7 раз (10,2%; $p=0,004$, Манна-Уитни), что, вероятно, обусловлено активацией / усилением фолликулогенеза. В дальнейшем удельный объём РФ (14,3%) снижался до значений контроля (13,8%, $p \geq 0,285$), оставаясь на 40% незначимо выше такового у крыс без применения ДГЭА (8,8%, $p \geq 0,192$). Удельный объём ЖТ к окончанию эксперимента (32,3% на 40-е сутки и 32,1% на 60-е сутки) был аналогичен значениям у животных только после операции (24,0%, $p \geq 0,333$ и 39,8%, $p \geq 0,412$), при этом незначимо выше удельного объёма ЖТ у контрольных крыс на 30% (25,1%, $p \geq 0,081$).

3.4. Результаты иммуногистохимического исследования

Учитывая результаты проведённых выше исследований, демонстрирующих наибольшее повреждение гонад при сочетанном удалении маточных рогов и яйцеводов, а также отсутствие значительного протективного эффекта андрогенов на функцию яичников после указанного оперативного вмешательства иммуногистохимическое исследование проведено только в группе животных с моделью ЭХ удаления маточных рогов, яйцеводов и у крыс группы контроля.

При изучении химических процессов в гонадах были дифференцированы все изучаемые молекулярно-биологические маркёры взаимодействия овоцита и соматических клеток окружения (VMР15, Сх37), а также факторы пролиферативной активности гранулёзы (АМГ). В целом, экспрессия изучаемых факторов в отдельных компонентах гонад после оперативного лечения оказывалась типичной. Вместе с тем, установлены определённые особенности при сравнении с иммунолокализацией у ложнопериовариованных животных. Только применение полуколичественной методики подсчёта по способу H-score при изучении препаратов с последующей статистической обработкой позволило оценить степень экспрессии биомаркёров и её динамику у животных сравниваемых групп.

Иммунолокализация костного морфогенетического белка 15

Экспрессия VMР-15 была выявлена в овоцитах и эпителиоцитах яйценосного бугорка яичников крыс контрольной и экспериментальной групп. Кроме того, фактор роста был обнаружен в эндокриноцитах теки, строме коры яичника, лютеоцитах ЖТ и поверхностном эпителии. Иммуное окрашивание наблюдалось в цитоплазме, реже во внеклеточном пространстве. Интенсивность экспрессии была наибольшей в овоцитах ПФ и ПРФ, наименьшей – в овоцитах ВРФ и ТРФ. Выраженное иммунопозитивное окрашивание также выявлялось в овоцитах РФ с начальными признаками атрезии, где половая клетка сохранна.

Экспрессия маркёра в фолликулярном эпителии в целом оказывалась более низкой, интенсивность увеличивалась по мере роста и развития фолликулов.

Удаление маточных рогов и яйцеводов приводило к увеличению интенсивности иммуноокраски овоцитов ПФ и ПРФ (рис. 3.4.1), максимально выраженной на 10-е сутки опыта (рис. 3.4.2). При этом экспрессия маркёра в овоцитах ВРФ и ТРФ оставалась неизменной, умеренной к окончанию эксперимента (рис. 3.4.3). В АФ любого типа и размера без признаков гипертрофии фолликулярных оболочек овоциты оказывались окрашенными менее интенсивно, чем в контроле (рис. 3.4.4-5). Интенсивность окраски эпителиоцитов яйценосного бугорка и париетальных эпителиоцитов гранулёзы в экспериментальной группе незначительно повышалась только в ранние сроки опыта (2-е сутки) в ПФ и фолликулах, только вступивших в рост, оставаясь неизменной в более крупных фолликулах (рис. 3.4.6). К 10-м суткам опыта экспрессия ВМР-15 снижалась после операции вне зависимости от типа фолликулов, а к 30-м соответствовала таковой в контроле.

Первоначально проведён сравнительный статистический анализ суммарной экспрессии ВМР-15 по срезам опытной и контрольной групп. В анализ включены эпителиоциты гранулёзы, текальные эндокриноциты и лютеоциты. Н-тест Краскела-Уоллиса показал отсутствие динамики экспрессии ВМР-15 в течение 30-и суток опыта ($H_{(2)}=2,5$, $p=0,289$), а также при сравнении с контролем ($H_{(3)}=3,1$, $p=0,379$), в связи с чем апостериорные сравнения не проводились.

Вторым этапом проведён сравнительный статистический анализ экспрессии маркёра отдельно по овоцитам и фолликулярному эпителию различных типов фолликулов, результаты которого представлены на рис. 3.4.7. Н-тест показал значимую динамику экспрессии ВМР-15 в течение 30-и суток опыта при сравнении с контролем в овоцитах всех типов фолликулов: ПФ ($H_{(3)}=55,5$, $p<0,001$), ПРФ ($H_{(3)}=54,0$, $p<0,001$), ВРФ ($H_{(3)}=42,2$, $p<0,001$), ТРФ ($H_{(3)}=64,1$, $p<0,001$), АФ ($H_{(3)}=21,7$, $p<0,001$) и фолликулярном эпителии всех типов фолликулов: ПФ ($H_{(3)}=15,7$, $p=0,001$), ПРФ ($H_{(3)}=14,1$, $p=0,003$), ВРФ ($H_{(3)}=13,3$, $p=0,004$), ТРФ ($H_{(3)}=8,7$, $p=0,034$), АФ ($H_{(3)}=28,6$, $p<0,001$).

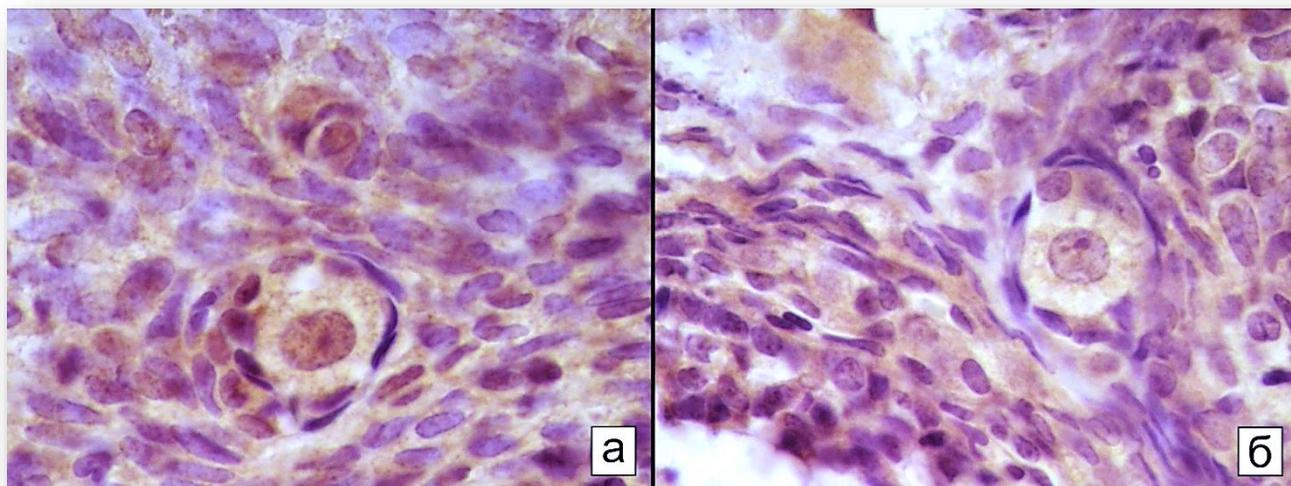


Рис. 3.4.1. Иммуногистохимическое окрашивание для VMР-15 в яичниках крыс на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (А) и контроле (Б). Первичный фолликул, только вступивший в рост. Интенсивность окраски овоцита после операции выше, чем в контроле. Увел. а, б – 2000.

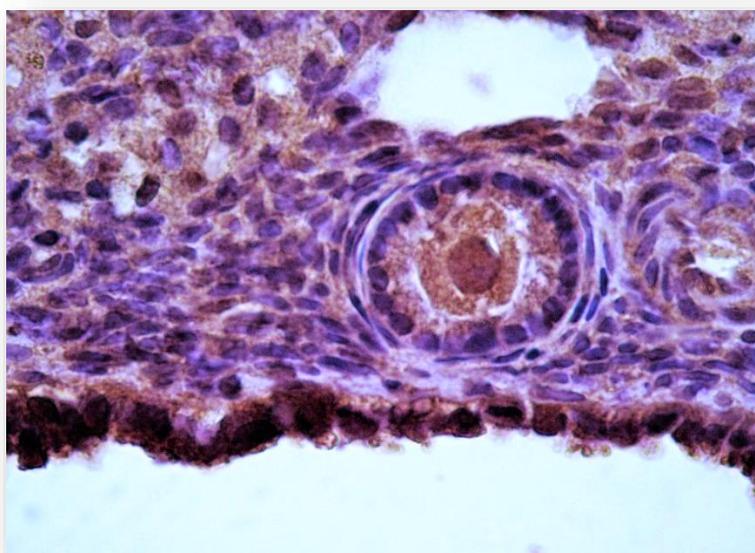


Рис. 3.4.2. Иммуногистохимическое окрашивание для VMР-15 в яичниках крыс на 10-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов. Первичный фолликул, выраженная экспрессия маркёра в овоците. Увел. 1000.

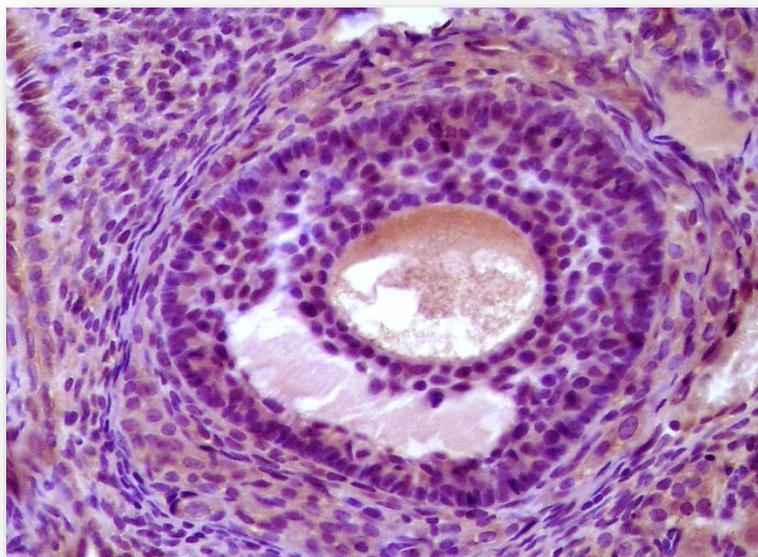


Рис. 3.4.3. Иммуногистохимическое окрашивание для ВМР-15 в яичнике крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов. Вторичный фолликул, интенсивность окраски овоцита умеренная. Увел. 800.

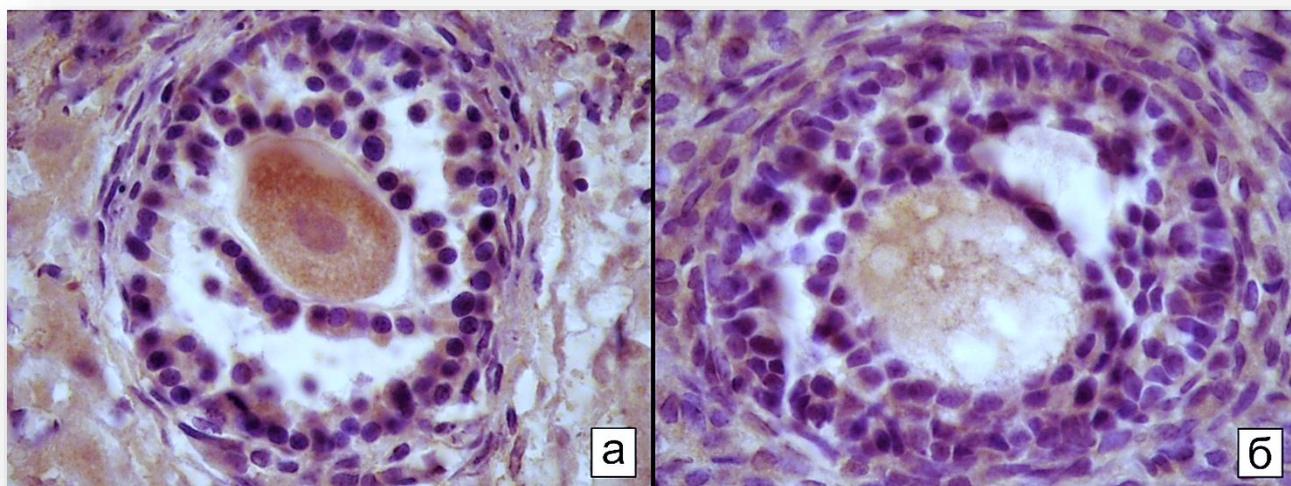


Рис. 3.4.4. Иммуногистохимическое окрашивание для ВМР-15 в яичниках крыс в контроле (А) и на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (Б) и атретические фолликулы. Интенсивность окраски овоцита после операции ниже, чем в контроле. Увел. а, б – 1000.

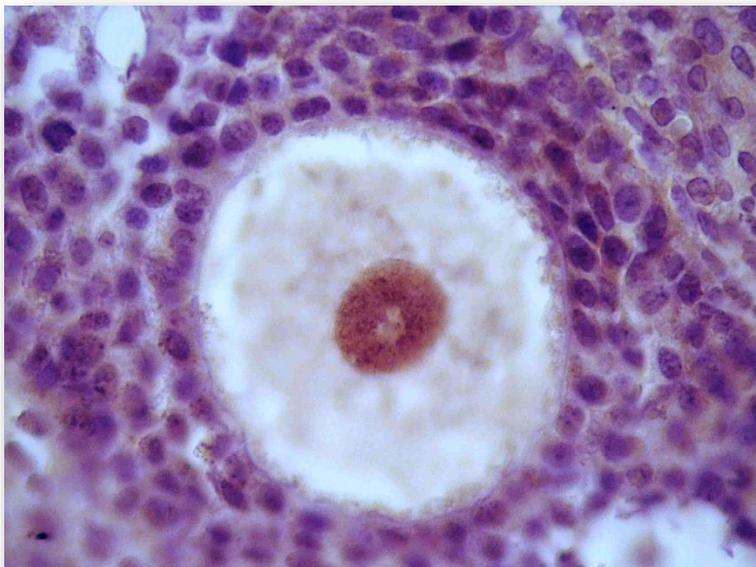


Рис. 3.4.5. Иммуногистохимическое окрашивание для VMR-15 в яичнике крысы контрольной группы. Увел. 1000.

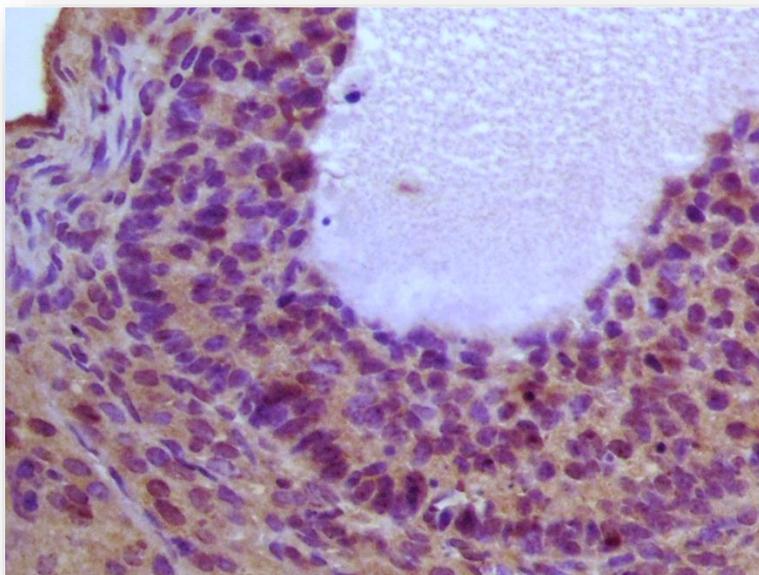


Рис. 3.4.6. Иммуногистохимическое окрашивание для VMR-15 в яичнике крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов. Умеренная экспрессия маркёра в обеих фолликулярных оболочках третичного фолликула с явлениями лютеинизации. Увел. 800.

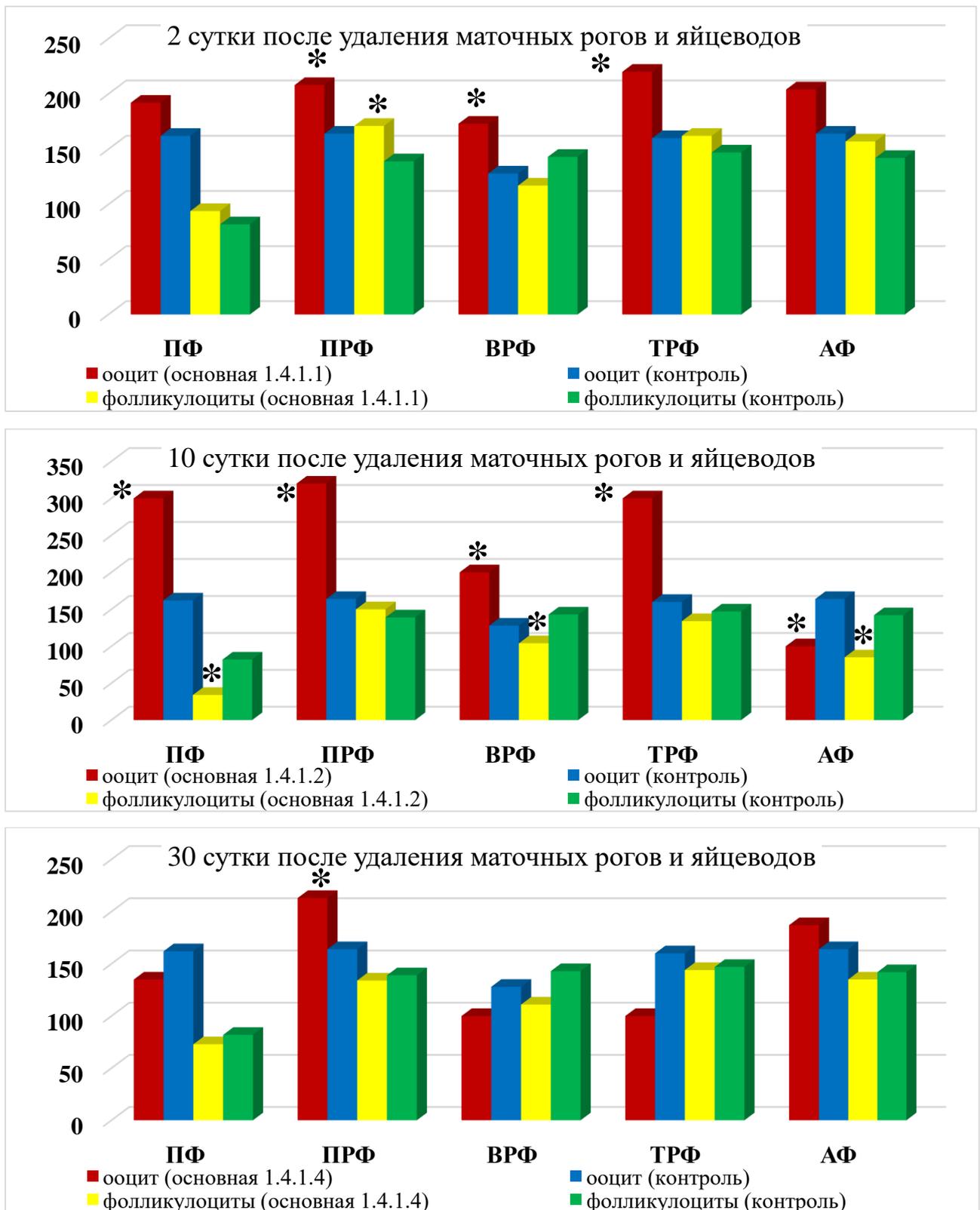


Рис. 3.4.7. Экспрессия BMP-15 в ооцитах и фолликулярном эпителии различных типов фолликулов (H-score, M).

Примечание: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные фолликулы, ВРФ – вторичные фолликулы, ТРФ – третичные и зрелые фолликулы, АФ – атретические фолликулы и тела, * – значимые отличия тестом Манна-Уитни при сравнении с контролем (критическое $p=0,017$).

Результаты post hoc тестов представлены в таблице 3.4.1. Обращало на себя внимание значимое повышение экспрессии BMP-15 после удаления маточных рогов и яйцеводов в овоцитах всех типов РФ на в ранние сроки после операции (2-10-е сутки), ПФ (10-е сутки), которое сохранялось к окончанию эксперимента (30-е сутки) только в фолликулах начальных этапов развития. Значимое повышение экспрессии маркера установлено в фолликулярных эпителиоцитах ПРФ на 2-е сутки. На 10-е сутки показано снижение иммунной окраски в фолликулярном эпителии всех типов РФ и АФ (значимое для ПФ, ВРФ и АФ). На 30-е сутки эксперимента экспрессия BMP-15 в фолликулярных эпителиоцитах значимо не отличалась от таковой в контроле.

Таблица 3.4.1. Апостериорные сравнения экспрессии BMP-15 в яичниках подопытных животных после удаления маточных рогов и яйцеводов (p, уровень значимости тестом Манна-Уитни)

	1.4.1.1 (2 сут) 1.4.1.2 (10 сут)	1.4.1.1 (2 сут) 1.4.1.4 (30 сут)	1.4.1.1 (2 сут) контроль	1.4.1.2 (10 сут) 1.4.1.4 (30 сут)	1.4.1.2 (10 сут) контроль	1.4.1.4 (30 сут) контроль
Ооц ПФ	p<0,001*	p=0,001*	p=0,123	p<0,001*	p<0,001*	p=0,120
Ооц ПРФ	p<0,001*	p=0,851	p=0,005*	p<0,001*	p<0,001*	p=0,002
Ооц ВРФ	p=0,102	p<0,001*	p=0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p=0,058
Ооц ТРФ	p<0,001*	p<0,001*	p=0,007*	p<0,001*	p=0,001*	p=0,035
Ооц АФ	p<0,001*	p=0,544	p=0,063	p=0,001*	p=0,002*	p=0,317
ФЭ ПФ	p<0,001*	p=0,180	p=0,694	p=0,013*	p=0,011*	p=0,556
ФЭ ПРФ	p=0,004*	p<0,001*	p=0,011*	p=0,398	p=0,152	p=0,980
ФЭ ВРФ	p=0,164	p=0,278	p=0,052	p=0,267	p=0,001*	p=0,018
ФЭ ТРФ	p=0,009*	p=0,013*	p=0,519	p=0,422	p=0,176	p=0,299
ФЭ АФ	p<0,001*	p=0,032	p=0,126	p<0,001*	p<0,001*	p=0,577

Примечание 1: Ооц – овоциты, ФЭ – фолликулярный эпителий, ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные растущие фолликулы, ВРФ – вторичные растущие фолликулы, ТРФ – третичные растущие фолликулы, АФ – атретические фолликулы и тела; * - статистически значимые отличия (критическое p=0,017).

Иммунолокализация коннексина 37

Экспрессия Cx37 была выявлена в овоцитах, фолликулярных эпителиоцитах, отдельных лютеоцитах и эндотелиоцитах сосудов яичников крыс контрольной и экспериментальной групп.

В каждой стадии развития фолликулов овоциты характеризовались более интенсивной окраской, чем фолликулярный эпителий. Слабое и умеренное

иммунопозитивное окрашивание наблюдалось на поверхности овоцитов (мембранное) ПФ и границе с прегранулёзными клетками. Повышение окраски, вероятно, выступало одним из факторов инициации фолликулярного роста (рис. 3.4.8). Иммунопозитивная реакция волнообразно нарастала по мере роста и развития фолликулов, достигала максимума в конце преантральной стадии (рис. 3.4.9). Позитивное окрашивание включало овоциты, zona pellucida, висцеральные эпителиоциты гранулёзы и яйценосного бугорка. В клетках гранулёзы динамика иммунной окраски была аналогичной. Антральные и предовуляторные фолликулы характеризовались диффузной, неравномерной иммунолокализацией щелевого контакта в эпителиоцитах гранулёзы (рис. 3.4.10), менее интенсивной окраской овоцитов.

При наличии атрезии слабое и умеренное иммунное окрашивание определялось в гранулёзе. Экспрессия Сх37 оказывалась выраженной в АФ с гипертрофией фолликулярных оболочек (рис. 3.4.11), при начальных этапах атрезии в овоцитах при его сохранности.

Первоначально проведён сравнительный статистический анализ суммарной экспрессии Сх37 по срезам опытной и контрольной групп. В анализ включены эпителиоцитах гранулёзы, овоциты и лютеоциты. Н-тест Краскела-Уоллиса показал отсутствие динамики экспрессии Сх37 в течение 30-и суток опыта ($H_{(2)}=0,5$, $p=0,784$), а также при сравнении с контролем ($H_{(3)}=1,3$, $p=0,725$), в связи с чем апостериорные сравнения не проводились.

Вторым этапом проведён сравнительный анализ экспрессии маркёра отдельно по овоцитам и клеткам гранулёзы различных типов фолликулов, результаты которого представлены на рис. 3.4.12. Н-тест показал значимую динамику экспрессии Сх37 в течение 30-и суток опыта при сравнении с контролем в овоцитах: ПФ ($H_{(3)}=10,8$, $p=0,013$), ВРФ ($H_{(3)}=50,3$, $p<0,001$), ТРФ ($H_{(3)}=27,3$, $p<0,001$) и фолликулярном эпителии: ПФ ($H_{(3)}=12,9$, $p=0,005$), ПРФ ($H_{(3)}=24,3$, $p<0,001$), АФ ($H_{(3)}=14,6$, $p=0,002$). Соответственно, в овоцитах ПРФ ($H_{(3)}=4,6$, $p=0,205$) и АФ ($H_{(3)}=4,6$, $p=0,205$), фолликулярном эпителии ВРФ ($H_{(3)}=1,3$, $p=0,720$) и ТРФ ($H_{(3)}=5,3$, $p=0,148$) динамики не установлено.

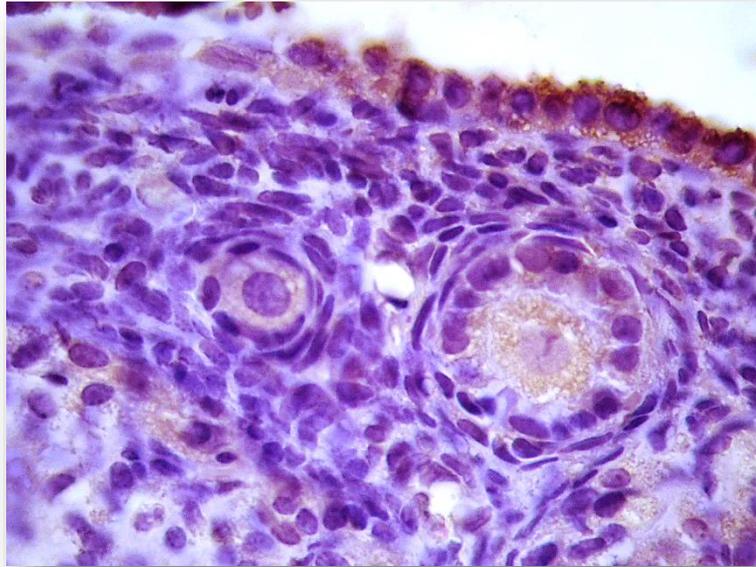


Рис. 3.4.8. Иммуногистохимическое окрашивание для Sx37 в яичнике крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов. Отсутствие экспрессии в примордиальном фолликуле, слабая экспрессия овоцита в первичном фолликуле, только вступившем в рост. Увел. 1000.

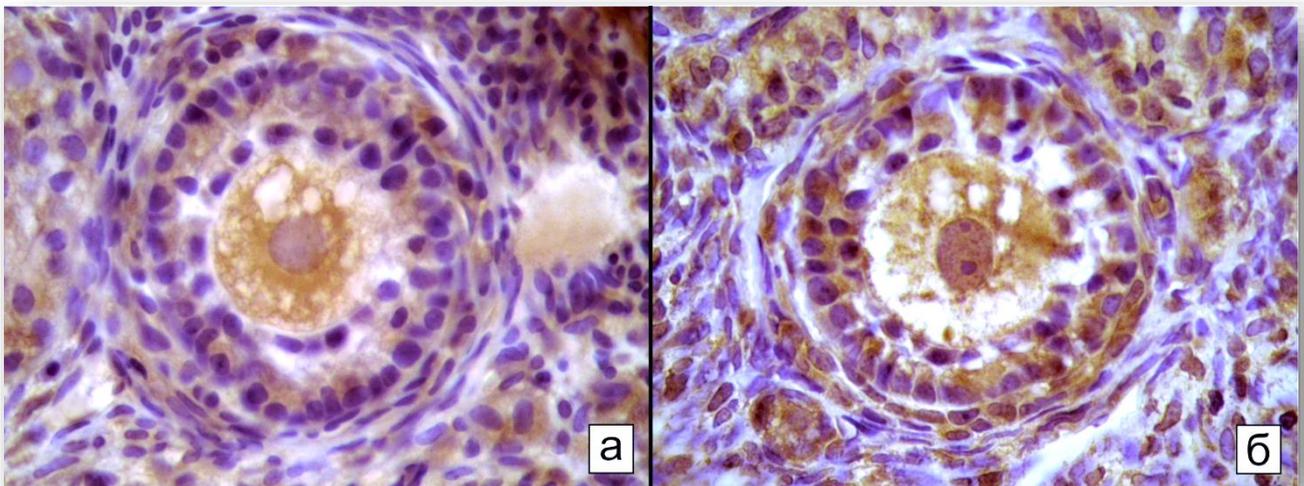


Рис. 3.4.9. Иммуногистохимическое окрашивание для Sx37 в яичнике крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (А) и в контроле (Б). Умеренное окрашивание овоцита первичного растущего фолликула в обоих препаратах. Увел. а, б – 1000.

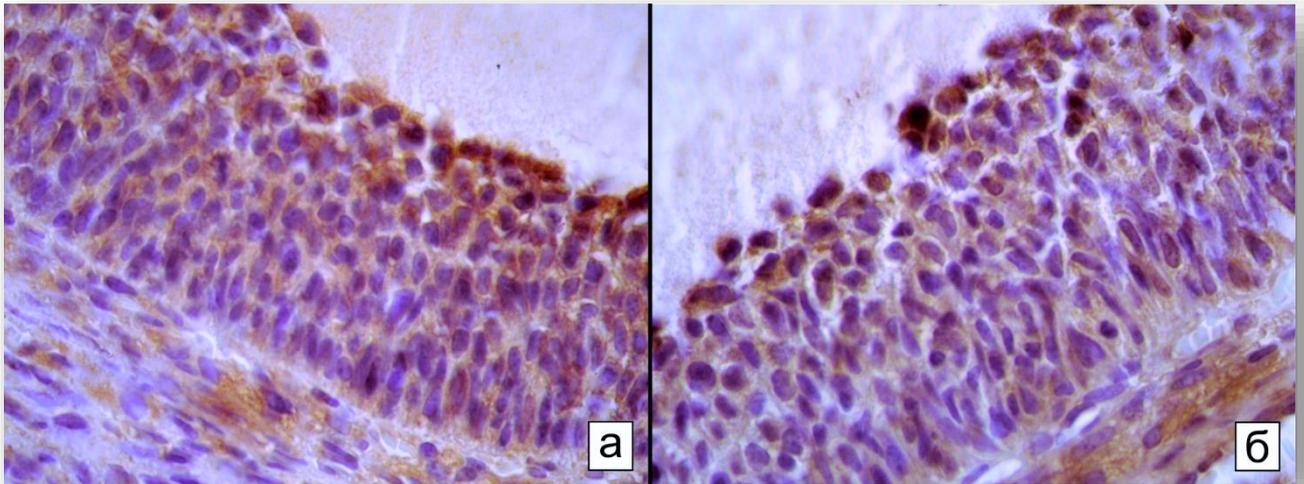


Рис. 3.4.10. Иммуногистохимическое окрашивание для Sx37 в яичнике крысы на 10-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (А) и в контроле (Б). Неравномерное умеренное окрашивание висцеральных клеток гранулёзы третичного фолликула в обоих препаратах. Увел. а, б – 1000.

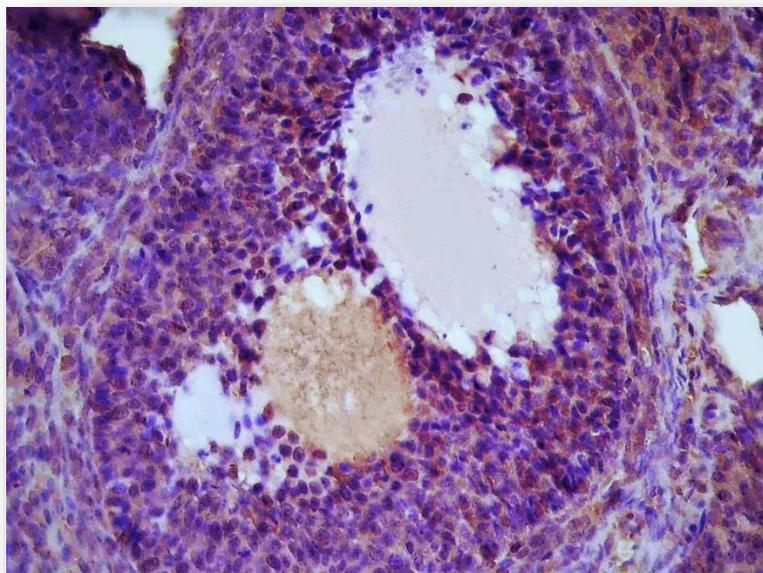


Рис. 3.4.11. Иммуногистохимическое окрашивание для Sx37 в яичнике крысы на 2-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов. Неравномерная умеренная и слабая экспрессия маркёра в эпителиоцитах атретического фолликула с гиперплазией фолликулярных оболочек. Увел. 400.

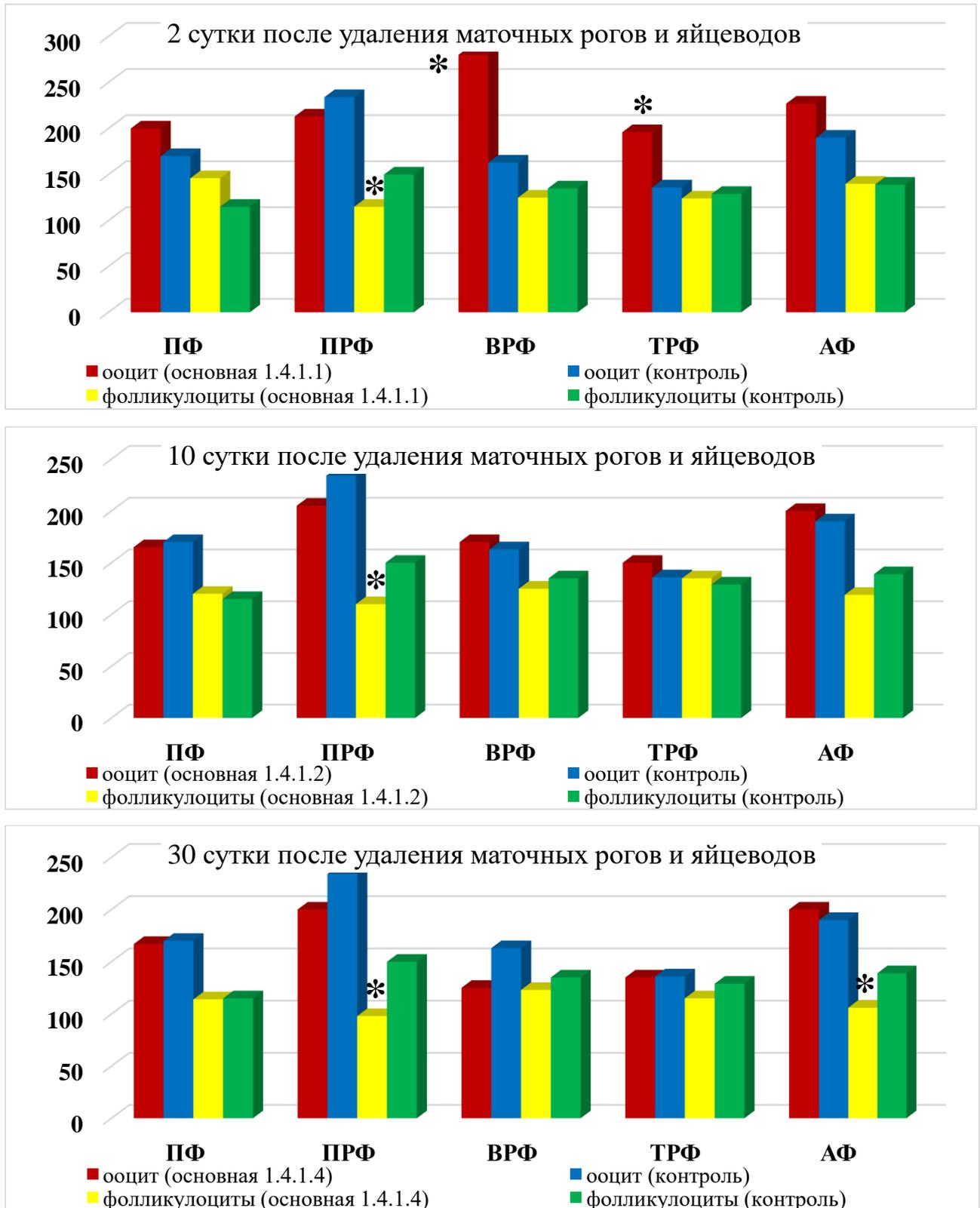


Рис 3.4.12. Экспрессия Cx 37 в овоцитах и фолликулярном эпителии различных типов фолликулов (H-score, M)

Примечание: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные фолликулы, ВРФ – вторичные фолликулы, ТРФ – третичные и зрелые фолликулы, АФ – атретические фолликулы и тела, * – значимые отличия тестом Манна-Уитни при сравнении с контролем (критическое $p=0,017$).

Результаты post hoc тестов представлены в таблице 3.4.2. После удаления маточных рогов и яйцеводов динамика иммунной окраски овоцитов оказывалась волнообразной, аналогичной контролю со смещением в сторону антральных фолликулов в ранние сроки опыта. Максимальная и значимая экспрессия Сх37 установлена в овоцитах вторичных и третичных фолликулов на 2-е сутки эксперимента. В фолликулярном эпителии первичных фолликулов иммунная реакция оказывалась слабее контроля. От 10-х до 30-х суток опыта экспрессия маркера в овоцитах статистически неотличима от таковой в контрольной группе, однако эффект операции, проявляющийся снижением окраски в эпителиоцитах гранулёзы, сохранялся вплоть до окончания эксперимента. Статистически значимое снижение экспрессии также установлено в эпителиоцитах АФ на 30-е сутки.

Таблица 3.4.2. Апостериорные сравнения экспрессии Сх37 в яичниках подопытных животных после удаления маточных рогов и яйцеводов (р, уровень значимости тестом Манна-Уитни)

	1.4.1.1 (2 сут) 1.4.1.2 (10 сут)	1.4.1.1 (2 сут) 1.4.1.4 (30 сут)	1.4.1.1 (2 сут) контроль	1.4.1.2 (10 сут) 1.4.1.4 (30 сут)	1.4.1.2 (10 сут) контроль	1.4.1.4 (30 сут) контроль
Ооц ПФ	p<0,001*	p=0,031	p=0,026	p=1,000	p=0,902	p=0,887
Ооц ПРФ	p=0,967	p=0,570	p=0,146	p=0,640	p=0,193	p=0,084
Ооц ВРФ	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p=0,001*	p=0,254	p=0,037
Ооц ТРФ	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p=0,013*	p=0,068	p=0,365
Ооц АФ	p=0,254	p=0,113	p=0,058	p=1,000	p=0,614	p=0,504
ФЭ ПФ	p=0,450	p=0,006*	p=0,003*	p=0,047	p=0,093	p=0,508
ФЭ ПРФ	p=0,501	p=0,016*	p=0,019	p=0,049	p=0,015*	p<0,001*
ФЭ ВРФ	p=0,095	p=0,690	p=0,399	p=0,637	p=0,733	p=0,506
ФЭ ТРФ	p=0,194	p=0,184	p=0,772	p=0,015*	p=0,334	p=0,126
ФЭ АФ	p=0,180	p<0,001*	p=0,638	p=0,085	p=0,332	p=0,001*

Примечание 1: Ооц – овоциты, ФЭ – фолликулярный эпителий, ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные растущие фолликулы, ВРФ – вторичные растущие фолликулы, ТРФ – третичные растущие фолликулы, АФ – атретические фолликулы и тела; * - статистически значимые отличия (критическое p=0,017).

Иммунолокализация антимюллера гормона

Экспрессия АМГ была выявлена в фолликулярном эпителии всех типов фолликулов, некоторых лютеоцитах яичников крыс контрольной и экспериментальной групп. Иммунопозитивное окрашивание, как правило,

наблюдалось в цитоплазме, реже во внеклеточном пространстве. Маркёр также был обнаружен в овоцитах. ПФ, как правило, характеризовались слабым иммунопозитивным окрашиванием клеток гранулёзы (рис. 3.4.13), редко – выраженной экспрессией. В большинстве ПРФ интенсивность иммунных сигналов в фолликулярном эпителии была умеренной (рис. 3.4.14). По мере увеличения количества слоёв гранулёзы в ПРФ экспрессия АМГ в ней возрастала (рис. 3.4.15), сохраняясь также в антральных фолликулах (рис. 3.4.16). В дальнейшем, по мере увеличения полости в фолликуле интенсивность окрашивания резко снижалась. АФ характеризовались неравномерной экспрессией маркёра в париетальных эпителиоцитах гранулёзы. Вне зависимости от фолликулярной стадии иммунопозитивного окрашивания клеток теки не выявлено.

Первоначально проведён сравнительный статистический анализ суммарной экспрессии АМГ по срезам опытной и контрольной групп. В анализ включены клетки гранулёзы. Н-тест показал отсутствие динамики экспрессии АМГ в течение 30-и суток опыта ($H_{(2)}=3,0$, $p=0,220$), а также при сравнении с контролем ($H_{(3)}=3,8$, $p=0,289$), в связи с чем апостериорные сравнения не проводились.

Вторым этапом проведён сравнительный статистический анализ экспрессии маркёра отдельно по фолликулярному эпителию различных типов фолликулов, результаты которого представлены на рис. 3.4.17. Н-тест показал значимую динамику экспрессии АМГ в течение 30-и суток опыта при сравнении с контролем в фолликулярном эпителии: ПРФ ($H_{(3)}=28,6$, $p<0,001$), ВРФ ($H_{(3)}=16,3$, $p=0,001$), АФ ($H_{(3)}=21,4$, $p<0,001$). Соответственно, в эпителиоцитах гранулёзы ПФ ($H_{(3)}=3,9$, $p=0,278$) и ТРФ ($H_{(3)}=6,2$, $p=0,103$) динамики не установлено.

Результаты *post hoc* тестов представлены в таблице 3.4.3. После удаления маточных рогов и яйцеводов динамика иммунной окраски клеток гранулёзы оказывалась смещённой в сторону преантральных фолликулов, аналогично контролю. Во все сроки опыта экспрессия АМГ в гранулёзе всех типов фолликулов оказывалась сниженной: на 2-е сутки значимо в ПРФ, на 10-е – во всех РФ и АФ, на 30-е – только в ВРФ.

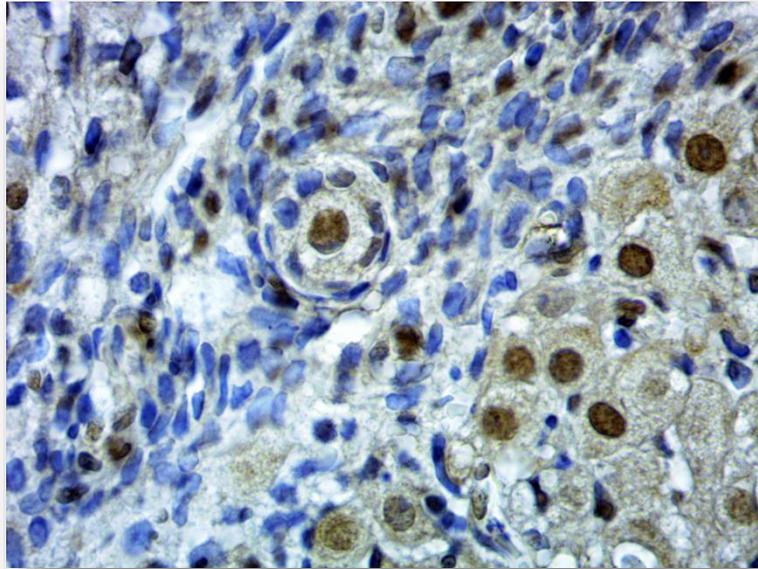


Рис. 3.4.13. Иммуногистохимическое окрашивание для АМГ в яичнике крысы на 30-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов. Слабая экспрессия маркёра в фолликулярных эпителиоцитах примордиального фолликула. Увел. 1000.

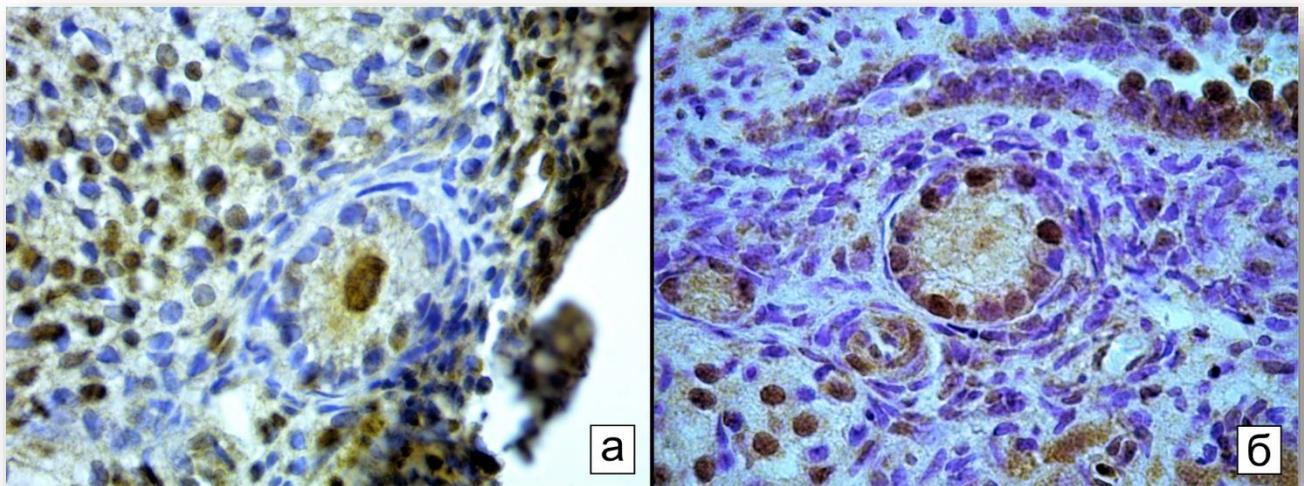


Рис. 3.4.14. Иммуногистохимическое окрашивание для АМГ в яичнике крысы на 10-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (А) и в контроле (Б). Интенсивность окраски фолликулярных эпителиоцитов первичного фолликула в контроле выше такового в опытной группе. Увел. а, б – 1000.

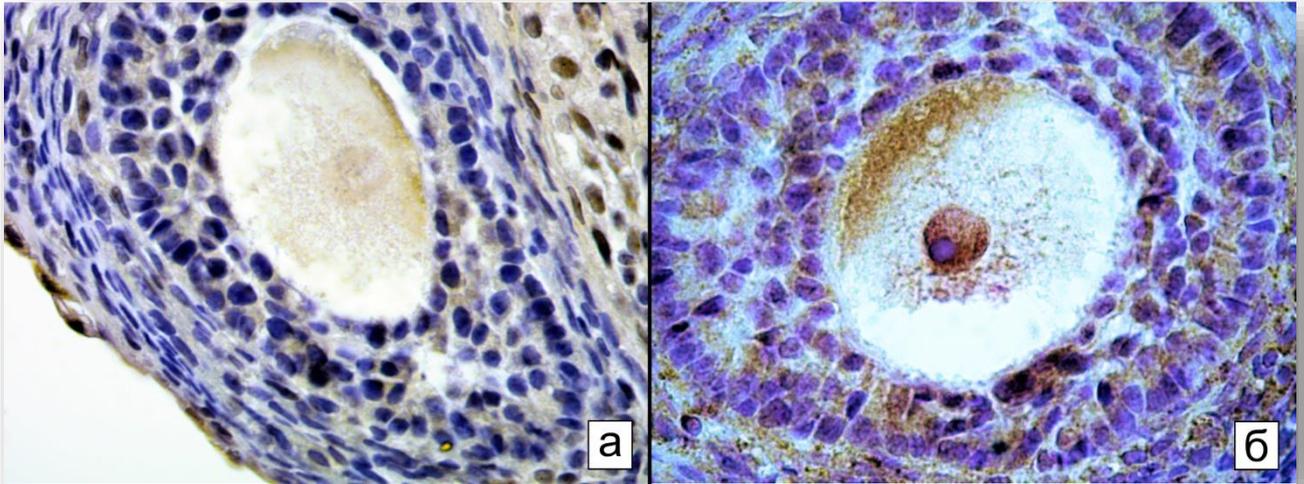


Рис. 3.4.15. Иммуногистохимическое окрашивание для АМГ в яичнике крысы на 10-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (А) и в контроле (Б). Интенсивность окраски фолликулярных эпителиоцитов преантрального фолликула в контроле выше такового в опытной группе. Увел. а, б – 1000.

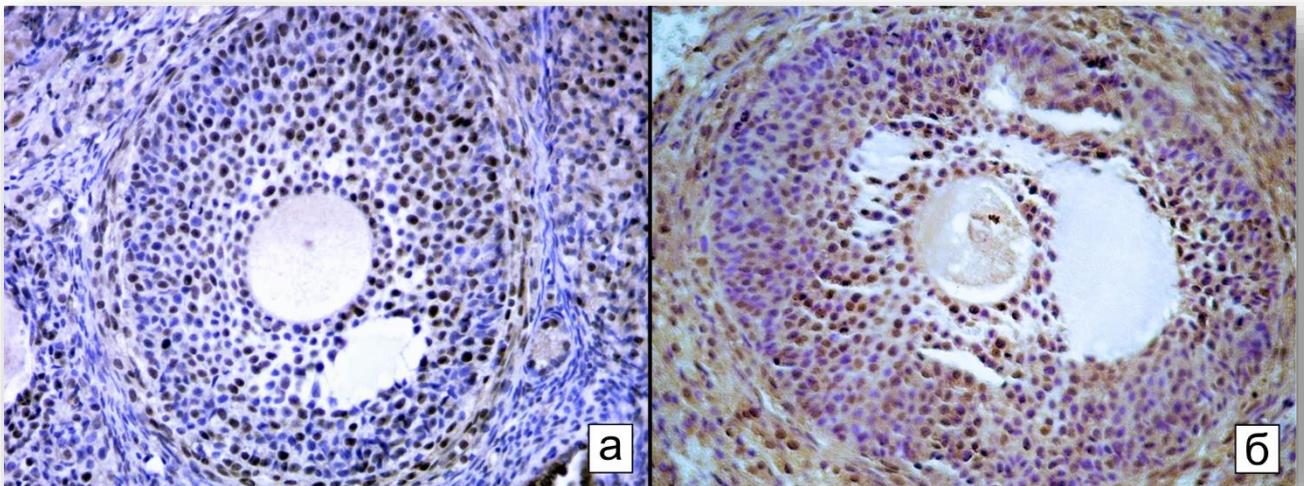


Рис. 3.4.16. Иммуногистохимическое окрашивание для АМГ в яичнике крысы на 10-е сутки после ЭХ удаления маточных рогов и яйцеводов (А) и в контроле (Б). Интенсивность окраски фолликулярных эпителиоцитов антрального (вторичного) фолликула неравномерная, в контроле выше такового в опытной группе. Увел. а, б – 400.

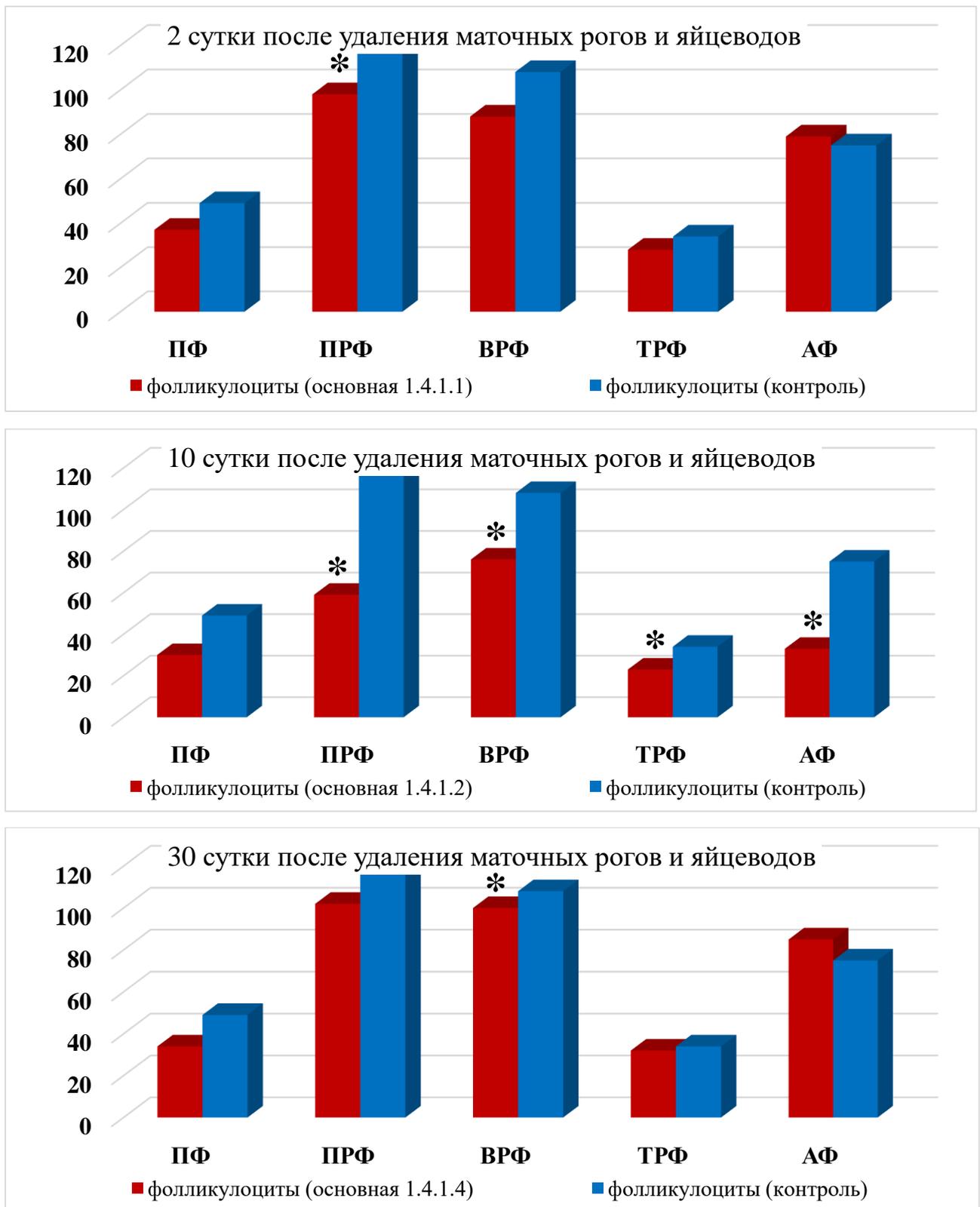


Рис. 3.4.17. Экспрессия АМГ в овоцитах и фолликулярном эпителии различных типов фолликулов (H-score, M)

Примечание: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные фолликулы, ВРФ – вторичные фолликулы, ТРФ – третичные и зрелые фолликулы, АФ – атретические фолликулы и тела, * – значимые отличия тестом Манна-Уитни при сравнении с контролем (критическое $p=0,017$).

Таблица 3.4.3. Апостериорные сравнения экспрессии АМГ в яичниках подопытных животных после удаления маточных рогов и яйцеводов (p, уровень значимости тестом Манна-Уитни)

	1.4.1.1 (2 сут) 1.4.1.2 (10 сут)	1.4.1.1 (2 сут) 1.4.1.4 (30 сут)	1.4.1.1 (2 сут) контроль	1.4.1.2 (10 сут) 1.4.1.4 (30 сут)	1.4.1.2 (10 сут) контроль	1.4.1.4 (30 сут) контроль
ФЭ ПФ	p=0,253	p=0,535	p=0,214	p=0,980	p=0,105	p=0,168
ФЭ ПРФ	p=0,003*	p=0,867	p=0,011*	p<0,001*	p<0,001*	p=0,189
ФЭ ВРФ	p=0,083	p=0,557	p=0,038	p=0,308	p<0,001*	p=0,013*
ФЭ ТРФ	p=0,306	p=0,479	p=0,253	p=0,082	p=0,014*	p=0,897
ФЭ АФ	p<0,001*	p=0,773	p=0,638	p<0,001*	p<0,001*	p=0,687

Примечание 1: ФЭ – фолликулярный эпителий, ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные растущие фолликулы, ВРФ – вторичные растущие фолликулы, ТРФ – третичные растущие фолликулы, АФ – атретические фолликулы и тела; * - статистически значимые отличия (критическое p=0,017).

Г Л А В А 4

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

4.1. Результаты ретроспективного исследования пациенток репродуктивного возраста с патологией маточных труб**4.1.1. Сравнительная клиничко-anamнестическая характеристика пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия**

Согласно цели и задачам исследования на первом этапе проведён ретроспективный анализ историй болезни 200 женщин (объем выборки после сопоставления с критериями включения / исключения). В основной группе (I) проведена билатеральная СЭ перед ВРТ, II – билатеральная окклюзия маточных труб имела место перед ВРТ. Группу сравнения (III) составили пациентки с ановуляторным бесплодием. Клиничко-anamнестические характеристики исследуемых пациенток представлены в таблице 4.1.1.1.

Принципиальным в плане сравнительной характеристики и анализа являлось разделение на подгруппы в соответствии с возрастом: до 35 лет (IA, IIА, IIIА) и после 35 лет (IB, IIВ, IIIВ). Поэтому в основу исходной однородности сравниваемых групп в первую очередь был положен возрастной критерий.

Средний возраст всех исследуемых ($n=200$) составил $33,9 \pm 0,4$ лет (минимум 22 года, максимум 45 лет). ANOVA демонстрировал однородность групп I, II и III в целом ($F_{22,177}=1,0$, $p=0,482$) и при делении на подгруппы IA, IIА, IIIА, контроля ($F_{14,103}=1,0$, $p=0,464$) и IB, IIВ, IIIВ ($F_{10,86}=1,1$, $p=0,388$). Аналогичные последним двум сравнениям результаты показал Н-тест Краскела-Уоллиса ($H_{(3)}=3,9$, $p=0,273$ и $H_{(2)}=3,1$, $p=0,213$, соответственно).

По *социальному статусу* женщины распределялись следующим образом: служащими оказались 90 (95% ДИ: 38-52%) пациенток, работающими – 72 (95% ДИ: 29-43%), безработными – 37 (95% ДИ: 13-24%) и учащимися 1 (95% ДИ: 0,1-3%) обследованных. Анализ таблиц сопряженности, χ^2 Пирсона с

поправкой на правдоподобие показали однородность социального статуса пациенток в изучаемых группах I, II, III ($\Lambda\chi^2_{(6)}=3,1$, $p=0,792$).

Таблица 4.1.1.1. Клинико-anamнестические показатели

Показатель	Группа I (n=80)	Группа II (n=48)	Группа III (n=72)
Возраст, годы; M±m (Me; Q1-Q3)	34,0±0,5 (35,0; 30,0-37,0)	33,5±0,8 (33,0; 30,0-37,8)	34,1±0,6 (34,0; 30,0-38,8)
Возраст менархе, годы; M±m (Me; Q1-Q3)	13,3±0,2 (13,0; 12,0-14,0)	13,2±0,2 (13,5; 12,0-14,0)	13,5±0,2 (14,0; 12,0-15,0)
Продолжительность менструального цикла, дни; M±m (Me; Q1-Q3)	28,9±0,4 (28,0; 28,0-30,0)	28,6±0,2 (28,0; 28,0-30,0)	33,8±2,0 (29,0; 27,6-30,0)
Бесплодие: абс. n (95% ДИ) первичное; вторичное	60 (64,5-83,2%) 20 (16,8-35,5%)	41 (72,8-92,8%) 7 (7,3-27,2%)	58 (70,0-88,1%) 14 (12,0-30,0%)
Продолжительность бесплодия, годы; M±m (Me; Q1-Q3)	6,3±0,6 (4,5; 2,0-9,8)	8,4±0,7 (8,0; 4,3-11,8)	6,3±0,4 (5,0; 3,3-7,0)
ЭКО в анамнезе; абс. n (95% ДИ) количество попыток; M±m (Me; Q1-Q3)	18 (14,7-32,8%) 2,2±0,3 (2,0; 1,0-3,0)	8 (8,7-29,6%) 2,0±0,4 (2,0; 1,0-2,8)	15 (13,1-31,6%) 2,1±0,3 (2,0; 1,0-3,0)
Индекс массы тела, вес, кг / (рост, м) ² M±m (Me; Q1-Q3)	23,9±0,4 (23,7; 20,3-26,6)	24,9±0,7 (24,3; 21,1-27,5)	26,0±0,7 (24,9; 21,8-29,3)

Отягощённый *аллергологический анамнез* имела каждая девятая пациентка (23 – 95% ДИ: 7-16%). Аллергические реакции на лекарственные средства в основном были связаны с приёмом антибактериальных препаратов β -лактамного ряда, непереносимостью местных анестетиков. Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона показали одинаковую частоту аллергических реакций в изучаемых группах I, II, III ($\chi^2_{(2)}=0,1$, $p=0,969$).

Оперативные вмешательства на органах брюшной полости в анамнезе были проведены у 13 (95% ДИ: 4-11%) пациенток – 11 аппендэктомий и 2 холецистэктомии. Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона с поправкой на правдоподобие показали одинаковую частоту операций в изучаемых группах I, II, III ($\Lambda\chi^2_{(2)}=0,9$, $p=0,649$).

⁶ Здесь и далее согласно рекомендациям ВОЗ под первичным бесплодием подразумевается отсутствие живорождения в анамнезе, а не отсутствие беременности

Анализ менструальной функции показал, что в подавляющем большинстве случаев *менархе* у женщин всех групп наступило в возрасте от 12 до 15 лет. Раннее менархе (до 12 лет) отмечено у 29 (95% ДИ: 10-19%) пациентки, позднее (после 15 лет) отмечали 16 (95% ДИ: 5-13%) женщин. Средний возраст менархе всех исследуемых (n=200) составил $13,3 \pm 0,1$ лет (от 11 до 18 лет). Н-тест Краскела-Уоллиса демонстрировал однородность групп I, II и III в целом ($H_{(2)}=1,2$, $p=0,542$) и при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA, контроля ($H_{(3)}=2,0$, $p=0,577$) и IB, IIB, IIIB ($H_{(2)}=4,7$, $p=0,096$).

Средняя продолжительность менструального цикла всех исследуемых (n=200) составила $30,6 \pm 0,8$ дней (от 21 до 135 дней). У 7 (95% ДИ: 9-19%) пациенток III группы (хроническая ановуляция) продолжительность менструального цикла составила от 30 до 180 дней. Н-тест Краскела-Уоллиса показал однородность групп I, II и III в целом ($H_{(2)}=2,2$, $p=0,337$) и при делении на подгруппы IB, IIB, IIIB ($H_{(2)}=2,4$, $p=0,305$). Между группами IA, IIA, IIIA, контроля установлена значимая разница продолжительности менструального цикла ($H_{(3)}=12,9$, $p=0,005$). Что в целом закономерно, так как из 7 пациенток III группы, имеющих продолжительность менструального цикла от 30 до 180 дней, 6 женщин находились в группе IIIA, а указанная длительность менструального цикла являлась объективным проявлением причины бесплодия. При исключении из анализа группы IIIA значимых различий не получено ($H_{(2)}=5,0$, $p=0,080$).

Средняя продолжительность менструации всех исследуемых (n=200) составила $4,7 \pm 0,1$ дней (от 3 до 11 дней). Н-тест Краскела-Уоллиса показал однородность групп I, II и III в целом ($H_{(2)}=0,8$, $p=0,677$) и при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA ($H_{(3)}=5,5$, $p=0,141$), IB, IIB, IIIB ($H_{(2)}=0,5$, $p=0,790$).

Нарушения менструального цикла в анамнезе установлено у 69 (95% ДИ: 28-41%) пациенток (таблица 4.1.1.2). Анализ таблиц сопряженности, χ^2 Пирсона показали одинаковую частоту нарушений менструального цикла в изучаемых группах I, II, III ($\chi^2_{(2)}=2,6$, $p=0,276$). Олигоменорея имела место у 21 (95% ДИ: 6-15%) пациентки, АМК – 34 (95% ДИ: 12-22%) женщин. Болезненные менструации отмечали 46 (95% ДИ: 17-29%) пациенток. Между нарушениями

менструального цикла и возрастом установлена взаимосвязь ($\Lambda\chi^2_{(22)}=52,9$, $p<0,001$), однако носившая нелинейный характер ($\chi^2_{\text{для тренда}}=1,6$, $p=0,209$). Симметричные (γ Гудмена-Краскела = $-0,090$, $p=0,345$) и асимметричные (d Сомерса = $-0,041$, $p=0,345$) меры также демонстрировали незначимый результат, что, вероятно, обозначало случайный эффект.

Таблица 4.1.1.2. Частота и виды нарушений менструального цикла, абс. n (95% ДИ)

Показатель	Группа I (n=80)	Группа II (n=48)	Группа III (n=72)
Олигоменорея	5 (3-14%)	3 (2-17%)	13 (11-28%)
АМК	13 (10-26%)	8 (9-30%)	13 (11-28%)
Дисменорея	18 (15-33%)	12 (15-39%)	16 (14-33%)
Нет нарушений м/ц	56 (59-79%)	33 (55-80%)	42 (47-69%)

Средний возраст начала половой жизни всех исследуемых ($n=215$) составил $18,2\pm 0,1$ лет (от 15 до 25 лет). Начало половой жизни до 18 лет отмечали 77 (95% ДИ: 29-42%) женщин. Н-тест Краскела-Уоллиса демонстрировал однородность групп I, II и III в целом ($H_{(2)}=5,4$, $p=0,068$) и при делении на подгруппы IA, ПА, ША ($H_{(3)}=7,4$, $p=0,059$), IB, ПB, ШB ($H_{(2)}=0,6$, $p=0,741$).

До планирования реализации репродуктивной функции эффективные методы контрацепции использовали 85 (95% ДИ: 36-49%) пациенток: комбинированные оральные контрацептивы – 39 (95% ДИ: 14-25%), барьерные методы – 33 (95% ДИ: 11-22%), внутриматочные средства – 13 (95% ДИ: 4-11%). 90 (95% ДИ: 38-52%) женщин в качестве метода контрацепции выбирали естественные методы (календарный и coitus interruptus), а 25 (95% ДИ: 8-17%) пациенток сообщали об отсутствии использования какого-либо метода предупреждения беременности вообще. Согласно таблице сопряженности, χ^2 Пирсона установлена одинаковая частота использования контрацепции в изучаемых группах I, II, III ($\chi^2_{(8)}=5,6$, $p=0,690$).

Анализ репродуктивной функции пациенток ($n=200$) показал, что беременность в анамнезе имели 114 женщин (95% ДИ: 50-64%), после ЭКО – 10 пациенток (95% ДИ: 3-9%), из них живорождением закончились только 2

(95% ДИ: 6-51%) беременности. Показатели акушерского анамнеза женщин представлены в таблице 4.1.1.3.

Таблица 4.1.1.3. Показатели репродуктивной функции, абс. n (95% ДИ)

Показатель	Группа I (n=80)	Группа II (n=48)	Группа III (n=72)
Роды (включая кесарево сечение)	20 (17-35%)	7 (7-27%)	14 (12-30%)
Артифициальные аборты	18 (15-33%)	19 (27-54%)	8 (6-20%)
Спонтанные аборты	12 (9-24%)	11 (13-37%)	25 (25-46%)
Общее число прерываний беременности	30 (28-48%)	30 (48-75%)	33 (35-57%)
Внематочная беременность	41 (40-62%)	2 (1-14%)	0 (0-5%)

Детородная функция была реализована у 41 женщины (95% ДИ: 15-26%), из них двое и более родов имели только 5 (95% ДИ: 5-26%). Согласно анализу таблиц сопряженности, χ^2 Пирсона с поправкой на правдоподобие различий в реализации детородной функции в изучаемых группах I, II, III не выявлено ($\Lambda\chi^2_{(4)}=2,3$, $p=0,682$). *Артифициальные аборты* в анамнезе имели 45 (95% ДИ: 17-28%) пациенток, из них два и более прерываний беременности – 12 (95% ДИ: 16-41%) женщин. *Спонтанные аборты* встречались у 48 (95% ДИ: 18-30%) пациенток, из них у 8 (95% ДИ: 9-30%) женщин установлено два и более самопроизвольных прерывания беременности. Частота артифициальных и самопроизвольных абортов значимо различалась в исследуемых группах I, II и III ($\Lambda\chi^2_{(6)}=24,3$, $p<0,001$ и $\Lambda\chi^2_{(6)}=20,1$, $p=0,003$, соответственно). Однако данной неоднородностью групп можно пренебречь в виду того, что общее количество прерываний беременности значимо не различалось ($\chi^2_{(2)}=2,3$, $p=0,322$). Согласно анализу таблиц сопряженности, χ^2 Пирсона с поправкой на правдоподобие были получены существенные различия и в частоте *эктопической беременности* в изучаемых группах I, II, III ($\Lambda\chi^2_{(8)}=86,5$, $p<0,001$). Данное обстоятельство закономерно, так как наличие внематочной беременности у пациенток III группы не соответствовало критерием включения / исключения. У двух пациенток II группы по поводу *эктопической беременности* проведена органосохраняющая

операция (линейная сальпинготомия с келифоэктомией), возможно приведшая к окклюзии маточных труб.

Анализ *структуры бесплодия* показал, что 159 (95% ДИ: 74-85%) женщин имели первичное бесплодие, 41 (95% ДИ: 15-26%) – вторичное. Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона показали одинаковую частоту обоих вариантов нарушения репродуктивной функции в изучаемых группах I, II, III ($\chi^2_{(2)}=2,1$, $p=0,354$). Закономерно чаще первичное бесплодия встречалось в возрасте до 35 лет – 64/66 (MLE=97%), и только 37/62 (MLE=60%) в старшей возрастной группе ($\chi^2=26,7$, $p<0,001$). ЭКО в анамнезе встречалось у каждой пятой пациентки – 41 (MLE=20,5%), одинаково часто в исследуемых группах I, II и III ($\chi^2_{(2)}=0,6$, $p=0,728$). Среднее количество попыток составило $2,1\pm 0,2$, по медианам не различалось в группах «окклюзия» и «СЭ» ($U=67,0$, $z=-0,3$, $p=0,749$).

Средняя *продолжительность бесплодия* составила $6,8\pm 0,3$ лет (от 1 до 20 лет). Н-тест Краскела-Уоллиса показал значимые различия в группах I, II и III в целом ($H_{(2)}=9,7$, $p=0,008$) и при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA ($H_{(2)}=6,9$, $p=0,032$). Группы IВ, IIВ, IIIВ оказывались однородными ($H_{(3)}=4,4$, $p=0,109$).

Учитывая данные таблицы 4.1.1.1, результаты предыдущего сравнения можно предположить, что пациентки, причиной бесплодия которых являлась билатеральная окклюзия маточных труб (группа II), более длительно не обращались за медицинской помощью, оставляя шанс на спонтанную беременность. При проведении апостериорных сравнений критерием Манна-Уитни (критическое $p=0,017$) вне связи с возрастом существенных различий в длительности бесплодия между группами I (Me=4,5) и III (Me=5,0) не получено ($U=2593,5$, $z=-1,1$, $p=0,288$). Однако, при сравнениях между группами I (Me=4,5) и II (Me=8,0), III (Me=5,0) и II (Me=8,0) искомая значимость установлена ($U=1348,0$, $z=-2,8$, $p=0,005$ и $U=1258,0$, $z=-2,5$, $p=0,011$, соответственно). При анализе длительности бесплодия в подгруппах до 35 лет (IA, IIA и IIIA) существенных различий не получено ($p\geq 0,018$). Данной неоднородностью групп в контексте проведённого исследования можно пренебречь, так как в группе II отсутствовали значимые корреляции между длительностью бесплодия и

основными изучаемыми параметрами: ОР (в частности концентрацией АМГ, $r_s = -0,002$, $p = 0,987$), исходом ВРТ (в частности частотой наступления беременности на цикл, $r_s = -0,160$, $p = 0,279$). Без учёта причины бесплодия его длительность оказывалась одинаковой в обеих возрастных подгруппах до ($Me = 5,0$) и после 35 лет ($Me = 7,0$; $U = 4218,5$, $z = -1,9$, $p = 0,057$).

На момент вступления в программу ВРТ физическое здоровье пациенток было оценено как удовлетворительное. При наличии хронической соматической патологии отмечалась стойкая ремиссия или компенсированное состояние, показатели общеклинических анализов крови и мочи, гемостазиограммы были в пределах нормы. Структура экстрагенитальной патологии исследуемых пациенток представлена в таблице 4.1.1.4.

Таблица 4.1.1.4. Экстрагенитальная патология, абс. n (95% ДИ)

Заболевания	Группа I (n=80)	Группа II (n=48)	Группа III (n=72)
Щитовидная железа	14 (11-27%)	8 (9-30%)	17 (15-35%)
Желудочно-кишечный тракт	19 (16-34%)	13 (17-41%)	16 (14-33%)
Мочевыделительная система	7 (4-17%)	4 (3-20%)	6 (4-17%)
Сердечно-сосудистая система	6 (3-15%)	0 (0-7%)	4 (2-13%)
Дыхательная система	6 (3-15%)	0 (0-7%)	4 (2-13%)
Молочная железа	9 (6-20%)	6 (6-25%)	4 (2-13%)
Другие	17 (14-31%)	3 (2-17%)	12 (10-27%)
Всего	46 (47-68%)	25 (38-66%)	44 (50-72%)

Соматическая патология имела место более чем у половины женщин каждой из групп. Выявлена наиболее высокая частота заболеваний щитовидной железы (без нарушений её функции) и желудочно-кишечного тракта у пациенток всех групп. Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона показали одинаковую частоту экстрагенитальной патологии в изучаемых группах I, II, III ($\chi^2_{(2)} = 1,0$, $p = 0,619$). Установлена линейная ($\chi^2_{\text{для тренда}} = 10,1$, $p = 0,001$) положительная (γ Гудмена-Краскела = 0,272, $p = 0,001$; d Сомерса = 0,135, $p = 0,001$) взаимосвязь

($\Lambda\chi^2_{(22)}=62,3$, $p<0,001$) между возрастом и наличием экстрагенитальной патологии.

Средний индекс массы тела (ИМТ) всех исследуемых ($n=200$) составил $24,9\pm 0,3$ (минимум 16,8, максимум 43,9). Нормальной массой тела характеризовалась только половина женщин – 104 (95% ДИ: 45-59%). Дефицит массы тела имели 8 (95% ДИ: 2-8%) пациенток, избыточную массу тела – 61 (95% ДИ: 24-37%), ожирение первой степени – 18 (95% ДИ: 6-14%), ожирение второй степени – 7 (95% ДИ: 2-7%), ожирение третьей степени – 2 (95% ДИ: 0-4%). Н-тест Краскела-Уоллиса показал однородность групп I, II и III в целом ($H_{(2)}=4,4$, $p=0,112$) и при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA ($H_{(2)}=2,0$, $p=0,374$) и IB, IIB, IIIB ($H_{(2)}=3,3$, $p=0,193$).

Гинекологические заболевания в исследуемых группах были излечены, не нарушали состояния здоровья женщин или требовали лишь диспансерного наблюдения. Структура гинекологических заболеваний представлена в таблице 4.1.1.5. Обращало на себя внимание наличие хронического сальпингита в анамнезе у всех пациенток основных групп, так как являлось причиной билатеральной СЭ в I группе и ведущим фактором бесплодия во II группе ($\chi^2_{(2)}=112,3$, $p<0,001$). Закономерна также высокая частота инфекций, передающихся половым путём в указанных группах ($\chi^2_{(2)}=13,9$, $p=0,001$). Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона при исключении хронического сальпингита показали одинаковую частоту гинекологической патологии ($\chi^2_{(2)}=2,9$, $p=0,232$) вне зависимости от фактора infertility. Частота хронического эндометрита, гиперпластических процессов эндометрия, миомы матки, эндометриоза и патологии шейки матки в изучаемых группах I, II, III также оказывались одинаковыми ($\chi^2_{(2)}=0,3$, $p=0,878$; $\chi^2_{(2)}=4,2$, $p=0,122$; $\chi^2_{(2)}=3,9$, $p=0,140$; $\Lambda\chi^2_{(2)}=4,5$, $p=0,103$; $\chi^2_{(2)}=0,4$, $p=0,833$, соответственно). Установлена линейная ($\chi^2_{(\text{для тренда})}=4,4$, $p=0,035$) положительная (γ Гудмена-Краскела $=0,299$, $p=0,048$; d Сомерса $=0,050$, $p=0,048$) взаимосвязь ($\Lambda\chi^2_{(22)}=48,7$, $p=0,001$) между возрастом и наличием гинекологической патологии.

Таблица 4.1.1.5. Гинекологическая патология, абс. n (95% ДИ)

Заболевания	Группа I (n=80)	Группа II (n=48)	Группа III (n=72)
Хронический сальпингит	80 (95-100%)	48 (93-100%)	24 (24-45%)
Инфекции, передающиеся половым путём	33 (31-52%)	15 (20-45%)	10 (8-24%)
Хронический эндометрит и гипопластичный эндометрий	21 (18-37%)	14 (18-43%)	18 (16-36%)
Гиперпластические процессы эндометрия	7 (4-17%)	10 (12-34%)	8 (6-20%)
Миома матки	13 (10-26%)	14 (18-43%)	20 (19-39%)
Эндометриоз	3 (1-10%)	2 (1-14%)	0 (0-5%)
Патология шейки матки	30 (28-48%)	16 (22-47%)	24 (24-45%)
Всего	80 (95-100%)	48 (93-100%)	54 (64-84%)

Лечебно-диагностическая лапароскопия была проведена 135 (95% ДИ: 61-74%) пациентам, закономерно и значимо чаще в первой группе ($\chi^2_{(2)}=65,6$, $p<0,001$). Следовало отметить отсутствие лапаротомных операций на ОМТ у пациенток всех групп.

В основной группе I всем 80 (MLE=100%) пациенткам проведено удаление маточных труб. Показанием к билатеральной СЭ у 45 (95% ДИ: 45-67%) женщин являлась подготовка к ВРТ при хроническом воспалительном процессе в маточных трубах (двухсторонние гидросальпинксы, хронический облитерирующий сальпингит). Удаление обеих маточных труб проводилось одномоментно. Вторым показанием к СЭ у пациенток I группы являлась эктопическая (трубная) беременность – 35 (95% ДИ: 33-55%), при этом сальпингокелифэктомия являлась второй органоуносящей операцией на маточных трубах у 14 (95% ДИ: 11-27%) пациенток. Этому контингенту женщин ранее проводились унилатеральная СЭ по поводу гидросальпинкса – 6 (95% ДИ: 3-15%) или трубной беременности – 8 (95% ДИ: 5-19%). Давность первой операции на маточной трубе составляла от 3 месяцев до 1 года. Оставшейся 21 (95% ДИ: 18-37%) пациентке помимо сальпингокелифэктомии с одной стороны, выполнялась СЭ и с другой, одномоментно, как этап подготовки к ВРТ.

В основной группе II окклюзия маточных труб установлена во время лапароскопии при гидротубации у 25 (95% ДИ: 38-66%) женщин. Остальным 23 (95% ДИ: 34-62%) пациенткам для диагностики непроходимости маточных труб использовалась гистеросальпингография. Учитывались только те заключения метода, в которых имелась запись о непроходимости обеих маточных труб.

В группе сравнения III проходимость маточных труб подтверждена интраоперационно у 30 (95% ДИ: 31-53%) женщин, при гистеросальпингографии – 42 (95% ДИ: 47-69%). Диагноз «хроническая ановуляция» устанавливался на основании данных фолликулометрии (≥ 2 ановуляторных циклов).

Таким образом, анализ основных клинико-анамнестических характеристик изучаемых групп с одной стороны позволил выявить особенности преморбидного фона нарушений репродуктивной функции, с другой – установить гомогенность сравниваемых групп, что давало возможность должным образом интерпретировать последующие результаты.

4.1.2. Анализ показателей функционального овариального резерва пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия

Помимо оценки ведущих медико-биологических факторов, анализа причин и длительности бесплодия, особенностей и продолжительности предшествующего лечения, влияющих на эффективность восстановления репродуктивной функции в программах ВРТ, обязательным этапом для выбора оптимального и безопасного метода стимуляции суперовуляции являлась оценка функционального ОР, некоторые показатели которого представлены в таблице 4.1.2.1. Первым этапом выполнено сравнение *гормонального профиля* в группах I, II, III вне зависимости от возраста.

При сравнении с контролем Н-тест Краскела-Уоллиса выявил значимые различия в исследуемых группах в концентрациях ФСГ ($H_{(3)}=21,1$, $p<0,001$), ЛГ ($H_{(3)}=14,2$, $p=0,003$), ингибина В ($H_{(3)}=27,9$, $p<0,001$) и E_2 ($H_{(3)}=11,7$, $p=0,009$).

Таблица 4.1.2.1. Функциональный овариальный резерв

Показатель	Группа I (n=80)		Группа II (n=48)		Группа III (n=72)		Контроль (n=15)
	Группа IA (n=37)	Группа IB (n=43)	Группа IIA (n=29)	Группа IIB (n=19)	Группа IIIA (n=37)	Группа IIIB (n=35)	
АМГ, нг/мл; M±m (Me; Q1-Q3)	3,1±0,3 (2,8; 1,1-4,6)		3,7±0,4 (3,0; 1,5-6,4)		5,7±1,5 (2,5; 1,1-6,4)		3,4±0,1 (3,2; 3,0-3,8)
	3,7±0,4 (3,9; 1,3-5,0)	2,6±0,3 (2,4; 1,1-3,6)	4,3±0,5 (3,2; 2,0-6,6)	2,9±0,6 (2,1; 1,1-5,6)	6,6±1,0 (5,0; 2,4-8,6)	4,7±2,8 (1,1; 0,7-2,5)	
ФСГ, мЕд/мл; M±m (Me; Q1-Q3)	8,9±0,5 (8,1; 5,2-11,6)		7,2±0,4 (7,0; 5,8-9,0)		8,0±0,4 (7,3; 5,4-10,1)		4,3±0,4 (3,6; 3,1-5,3)
	8,2±0,5 (8,1; 4,9-10,8)	9,6±0,8 (8,1; 6,2-12,6)	6,7±0,5 (6,9; 4,4-9,1)	8,1±0,8 (7,0; 6,3-8,8)	6,7±0,4 (6,9; 5,0-8,7)	9,2±0,7 (8,4; 5,5-13,1)	
ЛГ, мЕд/мл; M±m (Me; Q1-Q3)	6,4±0,6 (5,0; 3,7-7,1)		6,1±0,6 (4,8; 3,7-7,4)		7,7±0,6 (6,6; 3,9-10,0)		4,1±0,4 (3,8; 2,8-4,8)
	5,4±0,3 (4,9; 4,3-6,6)	7,3±1,1 (5,1; 3,3-7,2)	5,8±0,6 (4,9; 4,2-7,5)	6,6±1,2 (4,5; 3,6-5,8)	8,2±0,8 (8,1; 3,9-11,1)	7,3±0,8 (5,8; 4,1-9,5)	
Ингибин В, пг/мл; M±m (Me; Q1-Q3)	61±5 (68; 41-74)		112±27 (72; 54-110)		65±8 (57; 31-88)		125±1 (126; 120-128)
	56±6 (63; 41-73)	70±11 (75; 44-95)	128±37 (72; 39-117)	72±8 (60; 59-97)	78±12 (84; 39-101)	48±7 (41; 30-63)	
Эстрадиол, пмоль/л; M±m (Me; Q1-Q3)	194±19 (163; 90-223)		181±18 (146; 96-253)		262±23 (219; 112-325)		235±15 (226; 187-284)
	167±30 (140; 61-198)	215±23 (202; 116-275)	211±25 (180; 99-321)	132±20 (110; 88-149)	241±37 (139; 102-330)	284±28 (264; 203-325)	
Объём яичников (ΣV), см ³ ; M±m (Me; Q1-Q3)	14,6±0,9 (12,4; 11,1-16,4)		16,5±1,0 (15,6; 11,2-19,3)		17,3±1,2 (17,1; 11,6-18,9)		15,4±0,1 (15,4; 15,2- 15,6)
	15,3±1,0 (13,7; 12,2-17,0)	13,7±1,5 (12,1; 9,6-14,7)	16,2±1,1 (16,0; 11,2-19,3)	16,9±1,8 (15,6; 12,7-18,5)	17,8±1,8 (17,5; 11,7-19,7)	16,9±1,7 (16,6; 11,6-18,9)	
Количество антральных фолликулов (ΣКАФ); M±m (Me; Q1-Q3)	11,8±0,7 (11,0; 8,0-14,8)		13,3±0,8 (13,5; 8,5-19,0)		13,1±0,8 (12,0; 8,0-20,0)		12,6±0,5 (13,0; 11,0- 14,0)
	12,9±0,8 (12,0; 9,0-20,0)	10,9±1,1 (10,0; 6,0-14,0)	14,2±1,1 (15,0; 8,0-20,0)	11,8±1,1 (12,0; 10,0-16,0)	15,0±1,2 (14,0; 10,5-20,0)	11,0±1,1 (10,0; 6,0-19,0)	

В полной мере доверять результатам теста нельзя, так как возраст пациентов в контрольной группе находился в пределах 21-34 лет, а основной и сравнения – 21-45 лет. В связи с чем было выполнено сравнение с исключением группы контроля, при котором Н-тест Краскела-Уоллиса выявил значимые различия только в концентрациях ЛГ ($H_{(2)}=6,9$, $p=0,032$) и E_2 ($H_{(2)}=7,8$, $p=0,020$). Соответственно, в группах I, II и III концентрации ФСГ существенно выше, а ингибина В ниже таковых в контроле, однако эта разница может нивелироваться возрастным критерием.

Несмотря на значимый результат непараметрическом тестом многомерной статистики, апостериорные сравнения критерием Манна-Уитни для E_2 не выявили значимой разницы в концентрациях ($p \geq 0,016$, при критическом $p=0,0085$; количество попарных сравнений = 6), а для ЛГ существенно более высокими значениями характеризовалась только III группа по сравнению с контролем ($p=0,001$), остальные post hoc сравнения для ЛГ оказывались незначимыми ($p \geq 0,017$).

Более интересным, выглядели сравнения концентраций ФСГ и ингибина В. Выявлены значимо более высокие концентрации ФСГ каждой из групп (I, II, III), и более низкие ингибина В каждой из групп (I, II, III) по сравнению с таковыми в контроле ($p < 0,001$).

Для установления роли возрастного фактора в динамике концентрации гормонов проведены три группы сравнений между: 1) IA, IIA, IIIA и контролем, 2) IB, IIB и IIIB и 3) IA и IB, IIA и IIB, IIIA и IIIB.

Н-тест Краскела-Уоллиса в возрастных группах 21-34 лет установил наличие значимых изменений в концентрациях ФСГ ($H_{(3)}=17,8$, $p < 0,001$), ЛГ ($H_{(3)}=12,8$, $p=0,005$), ингибина В ($H_{(3)}=21,7$, $p < 0,001$) и E_2 ($H_{(3)}=9,6$, $p=0,022$), незначимых – АМГ ($H_{(3)}=5,5$, $p=0,139$). В возрастных группах 35-45 лет Н-тест Краскела-Уоллиса установил значимые изменения только концентрации E_2 ($H_{(2)}=15,0$, $p=0,001$). Незначимыми оказывались остальные сравнения: АМГ ($H_{(2)}=2,4$, $p=0,307$), ФСГ ($H_{(2)}=0,8$, $p=0,655$), ЛГ ($H_{(2)}=2,4$, $p=0,308$), ингибин В ($H_{(2)}=4,6$, $p=0,099$). Вне зависимости от фактора бесплодия и возраста

установлены отрицательные корреляции между ФСГ и КАФ ($r_s = -0,303$, $p < 0,001$), ФСГ и E_2 ($r_s = -0,197$, $p = 0,007$), ФСГ и ингибином В ($r_s = -0,293$, $p = 0,004$), положительные между АМГ и КАФ ($r_s = 0,432$, $p < 0,001$). Также установлена отрицательная корреляция между АМГ и возрастом ($r_s = -0,384$, $p < 0,001$). Результаты *post hoc* тестов представлены в таблице 4.1.2.2.

Таблица 4.1.2.2. Апостериорные сравнения для некоторых показателей овариального резерва пациенток с бесплодием в зависимости от возраста (p, уровень значимости тестом Манна-Уитни)

Группа сравнений	АМГ	ФСГ	ЛГ	Ингибин В	Эстрадиол	ΣV	$\Sigma КАФ$
возраст 21-34 года (индекс групп: А), критическое $p = 0,0085$							
IA-ПА	$p = 0,417$	$p = 0,097$	$p = 0,943$	$p = 0,131$	$p = 0,057$	$p = 0,431$	$p = 0,500$
IA-ША	$p = 0,030$	$p = 0,092$	$p = 0,018$	$p = 0,171$	$p = 0,149$	$p = 0,239$	$p = 0,178$
IA-контроль	$p = 0,242$	$p < 0,001^*$	$p = 0,019$	$p < 0,001^*$	$p = 0,001^*$	$p = 0,048$	$p = 0,668$
ПА-ША	$p = 0,156$	$p = 0,995$	$p = 0,072$	$p = 0,491$	$p = 1,000$	$p = 0,551$	$p = 0,810$
ПА-контроль	$p = 0,738$	$p = 0,005^*$	$p = 0,043$	$p = 0,006^*$	$p = 0,241$	$p = 0,665$	$p = 0,179$
ША-контроль	$p = 0,133$	$p = 0,002^*$	$p = 0,003^*$	$p = 0,007^*$	$p = 0,066$	$p = 0,150$	$p = 0,417$
возраст 35-45 лет (индекс групп: В), критическое $p = 0,017$							
IB-IB	$p = 0,724$	$p = 0,347$	$p = 0,813$	$p = 0,553$	$p = 0,018$	$p = 0,037$	$p = 0,403$
IB-IBB	$p = 0,152$	$p = 0,868$	$p = 0,218$	$p = 0,087$	$p = 0,026$	$p = 0,058$	$p = 0,735$
IBB-IBB	$p = 0,267$	$p = 0,497$	$p = 0,160$	$p = 0,069$	$p < 0,001^*$	$p = 0,841$	$p = 0,695$
внутригрупповые сравнения (между индексами А и В), критическое $p = 0,05$							
IA-IB	$p = 0,047^*$	$p = 0,502$	$p = 0,647$	$p = 0,072$	$p = 0,024^*$	$p = 0,016^*$	$p = 0,066$
ПА-IBB	$p = 0,040^*$	$p = 0,316$	$p = 0,908$	$p = 0,696$	$p = 0,049^*$	$p = 0,885$	$p = 0,077$
ША-IBB	$p < 0,001^*$	$p = 0,026^*$	$p = 0,282$	$p = 0,109$	$p = 0,052$	$p = 0,609$	$p = 0,024^*$

Примечание 1. * – статистически значимые отличия

Первая группа *post hoc* сравнений концентрации гормонов в возрасте до 34 лет продемонстрировала значимо более высокие значения ФСГ у пациентов с билатеральной СЭ (IA, $Me = 8,1$ мЕД/мл), окклюзией маточных труб (ПА, $Me = 6,9$ мЕД/мл) и хронической ановуляцией (ША, $Me = 6,9$ мЕД/мл) по сравнению с таковыми контроле ($Me = 3,6$ мЕД/мл; $U = 81,0$, $z = -4,0$, $p < 0,001$; $U = 104,0$, $z = -2,8$, $p = 0,005$ и $U = 113,0$, $z = -3,2$, $p = 0,002$, соответственно). При трубном бесплодии мощность тестов ($1 - \beta$) для группы IA составила 99,7%, для группы ПА – 94,9%.

После СЭ в возрасте 21-34 лет частота значений ФСГ более 10 мЕД/мл, как гормонального предиктора ограничения ОР, встречалась значимо чаще (10 случаев, 95%ДИ: 15-43%), чем в контроле (0 случаев, 95% ДИ: 0-20%; $p = 0,046$,

точный критерий Фишера). Остальные *post hoc* сравнения между IA-IIA, IA-IIIА и IIA-IIIА оказывались незначительными ($U=408,0$, $z=-1,7$, $p=0,097$; $U=498,0$, $z=-1,7$, $p=0,092$ и $U=507,0$, $z=-0,1$, $p=0,995$, соответственно).

Прямо противоположный результат показан для ингибина В, значимо более низкие значения установлены у пациентов с билатеральной СЭ (IA, $Me=63$ пг/мл), окклюзией маточных труб (IIA, $Me=72$ пг/мл) и хронической ановуляцией (IIIА, $Me=84$ пг/мл) по сравнению с таковыми контроле ($Me=126$ пг/мл; $U=1,0$, $z=-4,9$, $p<0,001$; $U=47,0$, $z=-2,7$, $p=0,006$ и $U=60,0$, $z=-2,7$, $p=0,007$, соответственно). В группе IA (СЭ) мощность сравнения с контролем оказывалась высокой ($1-\beta=100,0\%$), а в группе IIA – крайне низкой ($1-\beta=6,0\%$). Остальные *post hoc* сравнения между IA-IIA, IA-IIIА и IIA-IIIА оказывались незначительными ($U=99,000$, $Z=-1,511$, $p=0,131$; $U=126,000$, $Z=-1,370$, $p=0,171$ и $U=116,000$, $Z=-0,688$, $p=0,491$, соответственно).

В дополнение в вышесказанному у пациентов с билатеральной СЭ в возрасте до 34 лет (IA) установлена значимо более низкая концентрация E_2 ($Me=140$ пмоль/л) по сравнению с таковой в контроле ($Me=226$ пмоль/л; $U=89,0$, $z=-3,2$, $p=0,001$). Повышение концентрации ФСГ у пациентов с трубной патологией – билатеральной СЭ (IA) и окклюзией обеих маточных труб (IIA), вероятно, являлось следствием хронического воспалительного процесса в придатках матки, однако после перенесённой операции (удаления маточных труб, только группа IA), возможно, нарушалась стероид-синтетическая функция гонад, объективным проявлением которой являлось значимое снижение E_2 . Остальные *post hoc* сравнения между IA-IIA, IA-IIIА, IIA-IIIА, IIA-контроль и IIIА-контроль оказывались незначительными ($U=287,0$, $z=-1,9$, $p=0,057$; $U=352,0$, $z=-1,4$, $p=0,149$; $U=434,0$, $z=0$, $p=1,000$; $U=164,0$, $z=-1,2$, $p=0,241$ и $U=154,0$, $z=-1,8$, $p=0,066$, соответственно).

Учитывая незначительные результаты теста Краскела-Уоллиса апостериорные сравнения для АМГ приведены в таблице 4.1.2.2 в ознакомительных целях (значимых различий в исследуемых группах также не получено). Однако только после СЭ в возрасте до 35 лет частота значений АМГ менее 1,26 нг/мл, как

гормонального предиктора ограничения ОР, встречалась чаще (8 случаев, 95%ДИ: 13-41%), чем в контроле (0 случаев, 95%ДИ: 0-20%; точный критерий Фишера, $p=0,044$). В группах «окклюзия» и «хроническая ановуляция» при сравнении с контролем значения АМГ менее 1,26 нг/мл встречались одинаково часто (точный критерий Фишера, $p=0,540$ и $p=0,294$, соответственно).

Таким образом, в более молодом возрасте (в исследовании до 34 лет) при трубном бесплодии (в большей степени при СЭ, так как мощность тестов в указанной группе наиболее высока) имели место низкие концентрации ингибина В и E_2 , медианы значений которых ниже таковых в контроле в 1,5-2 раза. Недостаточное селективное ингибирование освобождения ФСГ приводило к относительному, но значимому повышению его базальной концентрации. Избыточная стимуляция яичников гипофизом, вероятно, увеличивала скорость отбора первичных фолликулов, тем самым подчёркивая вероятную кратковременную стимуляцию их роста оперативным лечением (аналогичные данные получены в эксперименте). Однако следовало отметить, что указанные гормоны (ингибин В, ФСГ и АМГ) находились в пределах референтных значений. Поэтому стимуляция фолликулогенеза могла быть незначительной, и / или изменения свидетельствовали о начальных этапах ОН.

Вторая группа апостериорных сравнений между группами пациентов с бесплодием (IВ-IIВ, IВ-IIIВ, IIВ-IIIВ) в возрасте от 35 до 45 лет демонстрировала отсутствие значимых результатов в концентрациях АМГ ($U=313,0$, $z=-0,4$, $p=0,724$; $U=431,0$, $z=-1,4$, $p=0,152$; $U=239,0$, $z=-1,1$, $p=0,267$), ФСГ ($U=347,0$, $z=-0,9$, $p=0,347$; $U=736,0$, $z=-0,2$, $p=0,868$; $U=295,0$, $z=-0,7$, $p=0,497$), ЛГ ($U=393,0$, $z=-0,2$, $p=0,813$; $U=630,0$, $z=-1,2$, $p=0,218$; $U=255,0$, $z=-1,4$, $p=0,160$) и ингибина В ($U=22,0$, $z=-0,6$, $p=0,553$; $U=36,0$, $z=-1,7$, $p=0,087$; $U=20,0$, $z=-1,8$, $p=0,069$), соответственно. Здесь из анализа по объективным причинам исключена группа контроля (возраст до 34 лет). Следует уточнить, что и первая группа показывала аналогичные результаты (сравнения IА-IIА, IА-IIIА, IIА-IIIА незначимы), что не противоречит заключениям, сделанным ранее.

Если сопоставить медианы концентраций E_2 в возрасте 35-45 лет после СЭ (Me=202 пмоль/л) и при окклюзии маточных труб (Me=110 пмоль/л) с таковыми при хронической ановуляции (Me=264 пмоль/л) прослеживалась тенденция к их снижению при трубном бесплодии ($U=350,0$, $z=-2,2$, $p=0,026$; $U=82,0$, $z=-3,7$, $p<0,001$, соответственно), статистически значимая при втором сравнении. Анализ концентрации E_2 между группами IV и ПВ демонстрировал не значимый результат ($U=188,0$, $z=-2,4$, $p=0,018$). Медиана E_2 у пациенток при трубном бесплодии ниже таковой при хронической ановуляции, медиана значений которой приближалась к контрольной. Следовательно, в этой группе имела место относительная гиперэстрогемия, являвшаяся проявлением вторичной ОН, а вклад СЭ в возрасте 35-45 лет нивелировался.

Третья группа *post hoc* сравнений демонстрировала внутригрупповые возрастные различия в концентрации АМГ, значения которого значимо снижались в группах с билатеральной СЭ от 3,9 нг/мл (Me в возрасте 21-34 года) до 2,4 нг/мл (Me в возрасте 35-45 лет; $U=416,0$, $z=-2,0$, $p=0,047$), окклюзией маточных труб от 3,2 нг/мл (Me в возрасте 21-34 года) до 2,1 нг/мл (Me в возрасте 35-45 лет; $U=178,0$, $z=-2,1$, $p=0,040$) и хронической ановуляцией от 5,0 нг/мл (Me в возрасте 21-34 года) до 1,1 нг/мл (Me в возрасте 35-45 лет; $U=211,0$, $z=-4,0$, $p<0,001$). Несмотря на значимое снижение АМГ с возрастом, медианы значений в 35-45 лет продолжали оставаться в пределах референтных концентраций (1,0-10,6 нг/мл). В то же время концентрация АМГ менее 1,26 нг/мл, как гормонального предиктора ограничения ОР, после СЭ встречалась одинаково часто (точный тест Фишера) в возрасте 21-34 лет (8 случаев, 95% ДИ: 11-37%) и 35-45 лет (12 случаев, 95% ДИ: 17-43%; $p=0,431$). При трубной окклюзии (2 случая, 95% ДИ: 2-22%) и хронической ановуляции (4 случая, 95% ДИ: 4-25%) частота низких значений АМГ оказывалось значимо выше в старшей возрастной группе (7 случаев, 95% ДИ: 19-59%; $p=0,020$ и 18 случаев, 95% ДИ: 36-67%; $p<0,001$, соответственно).

При исследовании концентрации E_2 противоположные результаты получены при сравнении в группах «сальпингэктомии» и «окклюзии».

Концентрация гормона оказывалась более высокой в группе IV в возрасте 35-45 лет ($Me=202$ пмоль/л) по сравнению с таковой в возрасте 21-34 лет (IA; $Me=140$ пмоль/л, $U=362,0$, $z=-2,3$, $p=0,024$), и наоборот в группе IIВ – более низкой в возрасте 35-45 лет ($Me=110$ пмоль/л) по сравнению с таковой в возрасте 21-34 лет (IIА; $Me=180$ пмоль/л, $U=154,0$, $z=-2,0$, $p=0,049$). Несмотря на значимый результат вне зависимости от возраста абсолютные значения концентрации E_2 при трубном бесплодии ниже таковых в контроле на 30-50%. Значимых различий в концентрации полового гормона при «хронической ановуляции» в зависимости от возраста не получено ($U=306,0$, $z=-1,9$, $p=0,052$).

Попарные сравнения (IA-IV, IIА-IIВ, IIIА-IIIВ) концентрации ингибина В в зависимости от возраста не выявили значимых различий ($U=49,0$, $z=-1,8$, $p=0,072$; $U=40,0$, $z=-0,4$, $p=0,696$; $U=84,0$, $z=-1,6$, $p=0,109$, соответственно). Учитывая существенное снижение ингибина В в возрасте 21-34 лет по сравнению с таковым в контроле, можно предположить, что концентрация гормона сохраняется на более низком уровне и в возрасте после 35 лет.

Практически аналогичные результаты получены и при сравнении (IA-IV, IIА-IIВ, IIIА-IIIВ) концентрации ФСГ в зависимости от возраста ($U=726,0$, $z=-0,7$, $p=0,502$; $U=228,0$, $z=-1,0$, $p=0,316$; $U=423,0$, $z=-2,2$, $p=0,026$, соответственно). Учитывая значимое увеличение ФСГ в возрасте 21-34 лет по сравнению с таковым в контроле, можно предположить, что концентрация гормона сохраняется на более высоком уровне и в более старшей возрастной группе у пациенток с трубным бесплодием. Частота значений ФСГ более 10 мЕд/мл, как гормонального предиктора ограничения ОР, после СЭ в возрасте 35-45 лет встречалась почти в 2 раза чаще (18 случаев, 95% ДИ: 28-57%) по сравнению с таковым в возрасте 21-34 лет (10 случаев, 95% ДИ: 15-43%; $\chi^2_{(1)}=1,9$, $p=0,165$). Однако только при хронической ановуляции разница частот становилась значимой – 2 случая (95% ДИ: 2-18%) в возрасте до 35 лет vs 16 случаев (95% ДИ: 30-62%) в возрасте после 35 лет ($\chi^2_{(1)}=14,7$, $p<0,001$).

Следующим этапом работы явилось сравнение *ультразвуковых критериев ОР* в группах I, II и III вне зависимости от возраста. При сравнении с контролем

Н-тест Краскела-Уоллиса не выявил значимых различий $\Sigma V_{я}$ и КАФ в исследуемых группах ($H_{(3)}=7,6$, $p=0,055$; $H_{(3)}=2,7$, $p=0,434$, соответственно). При исключении контроля получены аналогичные результаты ($H_{(2)}=5,6$, $p=0,061$; $H_{(2)}=2,1$, $p=0,346$, соответственно). Вне зависимости от фактора бесплодия $V_{я}$ и КАФ коррелируют с возрастом ($r_s=-0,204$, $p=0,006$ и $r_s=-0,269$, $p<0,001$).

Для установления роли возрастного фактора в динамике объёма яичников и общего количества антральных фолликулов также проведены три группы сравнений между: 1) IA, ПА, ША и контролем, 2) IB, ПБ и ШБ и 3) IA и IB, ПА и ПБ, ША и ШБ.

Н-тест Краскела-Уоллиса в возрастных группах 21-34 лет не установил значимых изменений ΣV и КАФ ($H_{(3)}=3,0$, $p=0,390$; $H_{(3)}=2,2$, $p=0,530$, соответственно). Аналогичные результаты были получены в возрастных группах 35-45 лет ($H_{(2)}=5,5$, $p=0,064$; $H_{(2)}=0,6$, $p=0,732$, соответственно).

Результаты третьей группы сравнений для каждого фактора бесплодия в разных возрастных подгруппах критерием Манна-Уитни представлены ниже. Показано, что при СЭ, выполненной в возрасте 35-45 лет (IB) медиана $\Sigma V_{я}$ ($Me=12,1\text{см}^3$) значимо ниже таковой при удалении маточных труб в возрасте 21-34 лет (IA) ($Me=13,7\text{см}^3$, $U=382,0$, $z=-2,4$, $p=0,016$). Однако это не приводило к снижению КАФ ($Me=10,0$ vs $Me=12,0$; $U=606,5$, $z=-1,8$, $p=0,066$). В группе пациенток с билатеральной окклюзией вне зависимости от возраста $\Sigma V_{я}$ и КАФ одинаковы ($Me=15,6\text{ см}^3$ vs $Me=16,0\text{ см}^3$; $U=250,0$, $z=-0,1$, $p=0,885$ и $Me=12,0$ vs $Me=15,0$; $U=192,0$, $z=-1,8$, $p=0,077$, соответственно). КАФ менее 10 (Σ в обоих яичниках), ещё одного предиктора ограничения ОР, после СЭ встречалось одинаково часто (точный критерий Фишера): 14 случаев (95% ДИ: 24-54%) в возрасте до 35 лет vs 20 случаев (95% ДИ: 33-61%) в возрасте после 35 лет ($p=0,500$). Аналогичное отсутствие разницы частот низких значений КАФ в разных возрастных подгруппах показано при окклюзии (4 случая, 95% ДИ: 9-43% vs 8 случаев, 95% ДИ: 15-46%; $p=0,739$) и хронической ановуляции (14 случаев, 95% ДИ: 26-56% vs 7 случаев, 95% ДИ: 9-34%; $p=0,070$).

При хронической ановуляции в возрасте 35-45 лет (ШВ) получено только значимое снижение КАФ ($Me=10,0$) по сравнению с таковым в возрасте 21-34 лет (ША) ($Me=14,0$, $U=448,0$, $z= -2,3$, $p=0,024$), что в целом согласуется с более выраженной потерей АМГ. ΣV_y не менялся ($Me=16,6 \text{ см}^3$ vs $Me=17,5 \text{ см}^3$; $U=333,0$, $z= -0,5$, $p=0,609$).

4.1.3. Анализ показателей индуцированного цикла у пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия

Результативность методов ВРТ во многом определялась характером ответа яичников на введение индукторов овуляции: стартовой и курсовой дозами гонадотропинов для достижения оптимального количества растущих фолликулов, продолжительностью стимуляции, выбором триггера. Данные показателей индуцированного цикла в сравнительном аспекте представлены в таблице 4.1.3.1.

Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона не показали значимого изменения в частотах назначений различных *триггеров овуляции* в группах I, II, III ($\chi^2_{(2)}=0,8$, $p=0,670$). При делении на возрастные подгруппы IA-IB, IIА-IIВ, IIIА-IIIВ установлены различия ($\chi^2_{(5)}=19,3$, $p=0,002$). Для определения разницы частот выбора триггера между различными факторами бесплодия проведено сравнение в возрасте до 35 (IA, IIА, IIIА) и после 35 (IB, IIВ, IIIВ). Значимых изменений не получено ($\chi^2_{(2)}=3,2$, $p=0,202$; $\chi^2_{(2)}=1,1$, $p=0,580$, соответственно). Точным критерием Фишера показано, что замена триггера не влияет на частоты клинической беременности ($p=0,374$), и живорождения ($p=0,755$).

Далее изучено влияние возраста на выбор триггера в каждой группе (четырёхпольные таблицы сопряжённости IA-IB, IIА-IIВ, IIIА-IIIВ, точный критерий Фишера). Показано, что при билатеральной СЭ и хронической ановуляции возраст является фактором выбора триггера ($p=0,039$, $p=0,001$, соответственно). В возрасте до 35 лет (MLE = 73,0% и 78,4%, соответственно, всех пациенток в указанных группах) назначается триггер аГнРГ, а после 35 лет преобладает α ХГ (MLE = 51,2% и 62,9%, соответственно). Вероятно, это

обусловлено более высоким риском развития СГЯ в более молодом возрасте. В группе пациенток с билатеральной окклюзией значимой разницы не получено (точный критерий Фишера, $p=0,377$), хотя относительные значения демонстрируют обратное – до 35 лет чаще назначается аГнРГ (MLE = 58,6%), после 35 лет – α ХГ (MLE = 57,9%), что, вероятно, обусловлено меньшим числом наблюдений в указанной группе.

Анализ таблиц сопряженности, χ^2 Пирсона не показали значимого изменения в частотах использования *фиксированного протокола* в группах I, II, III в целом ($\chi^2_{(2)}=2,2$, $p=0,333$), так и при делении на возрастные подгруппы IA, IB, IIA, IIB, IIIA и IIIB ($\chi^2_{(5)}=5,1$, $p=0,398$). Вне зависимости от причины бесплодия и возрастного фактора частота применения фиксированного протокола с антаГнРГ достаточно высокая – 2/3-3/4 всех протоколов, что вероятно, соответствует общей тенденции упрощения мониторинга стимуляции суперовуляции.

Средняя стартовая доза ФСГ всех исследуемых ($n=200$) составила 208 МЕ (от 75 до 325 МЕ). Н-тест Краскела-Уоллиса продемонстрировал одинаковую стартовую дозу в группах I, II и III в целом ($H_{(2)}=1,9$, $p=0,395$) и при делении на подгруппы IB, IIB, IIIB ($H_{(2)}=0,6$, $p=0,745$). В возрасте 21-34 года (IA, IIA, IIIA) получена значимая разница в выборе стартовой дозы ФСГ ($H_{(2)}=8,0$, $p=0,018$).

Post hoc сравнения критерием Манна-Уитни с критическим $p=0,017$ в группах до 35 лет показали значимо более низкие стартовые дозы ФСГ при билатеральной СЭ (Me=150 МЕ) по сравнению с таковой при хронической ановуляции (Me=150 МЕ; $U=451,0$, $z=-2,6$, $p=0,009$). При сравнении с таковой при билатеральной окклюзии (Me=150 МЕ) результат оказывался незначимым ($U=387,0$, $z=-2,0$, $p=0,045$). Аналогичные результаты сравнений стартовой дозы ФСГ установлены в группах IIA-IIIА ($U=464,0$, $z=-1,0$, $p=0,333$). Соответственно в более молодом возрасте (21-34 года) при наличии билатеральной СЭ чаще предполагался сохраненный ОР и хороший ответ на стимуляцию. Однако ранее полученные данные свидетельствовали об обратном. Результаты ответа на стимуляцию более подробно представлены в следующем разделе.

Таблица 4.1.3.1. Показатели индуцированного цикла

Показатель	Группа I (n=80)		Группа II (n=48)		Группа III (n=72)	
	Группа IA (n=37)	Группа IB (n=43)	Группа IIA (n=29)	Группа IIB (n=19)	Группа IIIA (n=37)	Группа IIIB (n=35)
Стартовая доза ФСГ, МЕ; M±m (Me; Q1-Q3)	203±7 (225; 150-225)		210±9 (225; 150-250)		212±8 (225; 150-250)	
	168±10 (150; 125-225)	232±8 (225; 225-275)	193±11 (150; 150-225)	237±13 (225; 225-300)	205±12 (225; 150-250)	219±12 (225; 225-250)
Курсовая доза ФСГ, МЕ; M±m (Me; Q1-Q3)	1879±89 (1800; 1150-2250)		1864±134 (1550; 1200-2400)		2122±109 (2100; 1350-2700)	
	1602±98 (1663; 1063-2025)	2117±132 (2050; 1600-2400)	1516±105 (1350; 1100-2025)	2395±259 (2400; 1200-3075)	1947±145 (2100; 1350-2250)	2307±160 (2200; 1525-3000)
Продолжительность стимуляции, дни; M±m (Me; Q1-Q3)	9,1±0,2 (9,0; 8,0-10,0)		9,2±0,2 (9,0; 8,0-10,0)		9,1±0,2 (9,0; 8,0-10,0)	
	9,1±0,3 (9,0; 8,0-10,0)	9,1±0,2 (9,0; 9,0-10,0)	9,0±0,3 (9,0; 8,0-10,0)	9,4±0,3 (9,0; 9,0-10,0)	9,3±0,2 (9,0; 8,0-10,5)	8,8±0,2 (9,0; 8,0-9,0)
Триггер; абс. n (95% ДИ)	48 (49-70%)		25 (38-66%)		42 (47-69%)	
	32 (30-51%)		23 (34-62%)		30 (31-53%)	
- трипторелин	27 (57-85%)	21 (35-63%)	17 (41-74%)	8 (23-64%)	29 (63-89%)	13 (23-54%)
	10 (15-43%)	22 (37-65%)	12 (26-59%)	11 (36-77%)	8 (11-37%)	22 (46-77%)
Протокол антаГнРГ; абс. n (95% ДИ)	54 (57-77%)		33 (55-80%)		56 (67-86%)	
	26 (23-43%)		15 (20-45%)		16 (14-33%)	
- multiple-dose fixed	23 (46-76%)	31 (72,1%)	22 (58-88%)	11 (36-77%)	28 (60-87%)	28 (64-90%)
- multiple-dose flexible	14 (24-54%)	12 (27,9%)	7 (12-42%)	8 (23-64%)	9 (13-40%)	7 (10-36%)

Примечание 1: multiple-dose fixed – добавление антаГнРГ производится по фиксированной схеме на 6-7 день стимуляции гонадотропинами
multiple-dose flexible – добавление антаГнРГ производится при размере доминантного фолликула 14-15 мм

Небезынтересным выглядели сравнения критерием Манна-Уитни с критическим $p=0,050$ стартовых доз в каждой группе в зависимости от возраста (IA-IB, IIA-IIIB, IIIA-IIIB). При хронической ановуляции возраст до ($Me=225$ ME) и после 35 лет ($Me=225$ ME) не влиял на выбор стартовой дозы ($U=593,0$, $z=-0,6$, $p=0,518$). В группах «сальпингэктомии» и «окклюзии» возраст, наоборот, вероятно, являлся ведущим фактором выбора стартовой дозы ФСГ ($Me=150$ ME для каждой группы в возрасте 21-34 года) vs ($Me=225$ ME для каждой группы в возрасте 35-45 лет; $U=338,0$, $z=-4,6$, $p<0,001$ и $U=169,0$, $z=-2,4$, $p=0,019$, соответственно). Таким образом, при наличии хронических воспалительных заболеваний ОМТ, вне зависимости от проведённого оперативного лечения (СЭ ±) в позднем репродуктивном возрасте (35-45 лет) предполагался сниженный ОР и худший ответ на стимуляцию. Результаты ответа на стимуляцию более подробно представлены в следующем разделе.

Средняя курсовая доза ФСГ всех исследуемых ($n=200$) составила 1963 ME (от 475 до 4500 ME). Н-тест Краскела-Уоллиса демонстрировал одинаковую курсовую дозу ФСГ в группах I, II и III в целом ($H_{(2)}=3,5$, $p=0,170$) и при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA ($H_{(2)}=5,1$, $p=0,078$). ANOVA показал аналогичный результат в подгруппах IB, IIB, IIIB ($F_{2,94}=0,7$, $p=0,500$). Соответственно, *post hoc* сравнения (тест Манна-Уитни с критическим $p=0,050$) можно было проводить только в подгруппах в зависимости от возраста (IA-IB, IIA-IIIB, IIIA-IIIB).

При хронической ановуляции возраст до ($Me=2100$ ME) и после 35 лет ($Me=2200$ ME) не влиял на курсовую дозу ФСГ ($U=501,0$, $z=-1,7$, $p=0,098$). В группах «сальпингэктомии» и «окклюзии» возраст, наоборот, вероятно, являлся ведущим фактором назначения более высокой курсовой дозы ФСГ ($Me=1663$ ME и $Me=1350$ ME, соответственно в возрасте 21-34 года) vs ($Me=2050$ ME и $Me=2400$ ME, соответственно в возрасте 35-45 лет; $U=502,0$, $z=-2,8$, $p=0,005$ и $U=138,0$, $z=-2,9$, $p=0,004$, соответственно). Также можно предположить, что в старшей возрастной группе рост фолликулов более медленный, это требовало увеличения дозы гонадотропинов. Таким образом, априорное допущение о более низком ОР и худшем ответе на стимуляцию в возрасте старше 35 лет у пациенток

с трубным бесплодием по данным сравнений стартовой дозы ФСГ, подтверждается более высокой курсовой дозой гонадотропинов в указанной возрастной группе для достижения оптимального результата стимуляции.

Средняя продолжительность стимуляции всех исследуемых ($n=200$) составила 9,1 дней (от 6 до 15 дней). Н-тест Краскела-Уоллиса показал одинаковую длительность стимуляции в группах I, II и III в целом ($H_{(2)}=0,8$, $p=0,683$) и при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA ($H_{(2)}=1,0$, $p=0,598$). В возрасте 35-45 лет установлена различная продолжительность стимуляции в подгруппах IB, IIB, IIIB ($H_{(2)}=6,5$, $p=0,039$). Апостериорные сравнения критерием Манна-Уитни с критическим $p=0,017$ в группах (IB-IIB, IB-IIIB и IIB-IIIB) не выявили значимых различий ($U=322,0$, $z=-1,3$, $p=0,186$; $U=672,0$, $z=-0,8$, $p=0,418$; $U=310,0$, $z=-0,4$, $p=0,683$, соответственно). Далее проведено сравнение подгрупп критерием Манна-Уитни с критическим $p=0,050$ в зависимости от возраста (IA-IB, IIA-IIB, IIIA-IIIB). Увеличения продолжительности стимуляции не выявлено ни в одном случае ($U=700,0$, $z=-1,0$, $p=0,338$; $U=230,0$, $z=-1,0$, $p=0,325$; $U=506,0$, $z=-1,7$, $p=0,099$, соответственно). Таким образом, ни возраст, ни фактор бесплодия не являются ведущими факторами длительности стимуляции.

4.1.4. Анализ показателей эмбриологического этапа у пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия

Эффективность методов ВРТ определяется не только характером ответа на индукцию суперовуляции, но и количеством и качеством получаемых овоцитов, культивируемых эмбрионов. На основании чего проводился анализ показателей эмбриологического этапа у пациентов разных возрастных групп. Данные представлены в таблице 4.1.4.1.

Среднее количество пунктированных фолликулов у всех исследуемых ($n=200$) составило 10,2 (от 1 до 74). Н-тест Краскела-Уоллиса демонстрировал отсутствие значимой разницы количества пунктированных фолликулов в группах I, II и III в целом ($H_{(2)}=0,4$, $p=0,818$) и при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA ($H_{(2)}=0,1$, $p=0,985$) и IB, IIB, IIIB ($H_{(2)}=1,2$, $p=0,550$).

Таблица 4.1.4.1. Характеристика эмбриологических показателей

Показатель	Группа I (n=80)		Группа II (n=48)		Группа III (n=72)	
	Группа IA (n=37)	Группа IB (n=43)	Группа IIA (n=29)	Группа IIB (n=19)	Группа IIIA (n=37)	Группа IIIB (n=35)
Количество пунктированных фолликулов; M±m (Me; Q1-Q3)	10,0±1,2 (7,0; 5,0-11,8)		10,1±1,1 (8,5; 5,0-13,8)		11,4±1,4 (8,0; 3,0-19,0)	
	13,2±2,2 (9,0; 7,0-13,0)	7,2±1,0 (5,0; 4,0-10,0)	11,5±1,5 (9,0; 7,0-15,0)	7,7±1,4 (5,0; 3,0-13,5)	13,7±1,5 (9,0; 8,0-20,5)	9,2±2,4 (3,0; 3,0-15,0)
Количество овоцитов; M±m (Me; Q1-Q3)	6,2±0,5 (5,0; 4,0-7,0)		7,0±0,7 (6,0; 3,0-10,0)		6,9±0,6 (5,5; 2,0-12,3)	
	6,9±0,8 (5,0; 4,0-7,0)	5,5±0,7 (4,0; 3,0-7,0)	8,2±0,9 (8,0; 5,5-10,0)	5,0±0,8 (3,0; 2,0-8,5)	9,3±0,9 (9,0; 4,5-13,0)	4,5±0,7 (3,0; 2,0-6,0)
Доля; абс. кол-во (95% ДИ) - зрелых (MII);	330 / 494 (63-71%)		223 / 322 (64-74%)		288 / 466 (57-66%)	
	162 / 256 (57-69%)	168 / 238 (65-76%)	157 / 237 (60-72%)	66 / 85 (68-85%)	183 / 317 (52-63%)	105 / 149 (63-78%)
- незрелых (MI, GV);	100 / 494 (17-24%)		45 / 322 (10-18%)		116 / 466 (21-29%)	
	56 / 256 (17-27%)	44 / 238 (14-23%)	37 / 237 (11-20%)	8 / 85 (5-17%)	85 / 317 (22-32%)	31 / 149 (14-27%)
- дегенеративных (Fr, Atr)	64 / 494 (10-16%)		54 / 322 (13-21%)		62 / 466 (10-16%)	
	38 / 256 (10-19%)	26 / 238 (7-15%)	43 / 237 (13-23%)	11 / 85 (7-22%)	49 / 317 (11-19%)	13 / 149 (5-14%)
Количество оплодотворённых; M±m (Me; Q1-Q3)	6,6±0,4 (7,0; 5,0-8,0)		6,0±0,6 (6,0; 3,0-8,0)		7,8±0,7 (8,0; 5,5-10,0)	
	6,0±0,6 (5,0; 4,0-8,0)	7,5±0,5 (7,0; 7,0-8,0)	6,4±0,8 (6,0; 5,0-8,5)	5,1±0,8 (6,0; 2,0-7,0)	9,1±0,9 (8,0; 6,0-10,0)	6,1±1,0 (6,0; 3,0-9,0)
Количество не оплодотворённых; M±m (Me; Q1-Q3)	0,7±0,1 (1,0; 0-1,0)		1,0±0,2 (1,0; 0-1,0)		1,0±0,2 (1,0; 0-1,0)	
	0,7±0,1 (1,0; 0-1,0)	0,6±0,1 (1,0; 0-1,0)	1,2±0,3 (1,0; 0-2,0)	0,7±0,1 (1,0; 0-1,0)	1,1±0,3 (1,0; 0-1,0)	1,0±0,2 (1,0; 0-1,5)
Доля неоплодотворённых; абс. кол-во (95% ДИ) - отсутствие сингамии (Opn)	52 / 494 (8-13%)		47 / 322 (11-18%)		72 / 466 (12-19%)	
	25 / 256 (6-13%)	27 / 238 (7-15%)	35 / 237 (10-19%)	12 / 85 (8-23%)	40 / 317 (9-16%)	32 / 149 (15-28%)

Таблица 4.1.4.1. Характеристика эмбриологических показателей (продолжение)

Показатель	Группа I (n=80)		Группа II (n=48)		Группа III (n=72)	
	Группа IA (n=37)	Группа IB (n=43)	Группа IIA (n=29)	Группа IIB (n=19)	Группа IIIA (n=37)	Группа IIIB (n=35)
Доля оплодотворённых; абс. кол-во (95% ДИ) - нормальная сингамия (2pn)	270 / 292 (89-95%)		172 / 198 (82-92%)		236 / 264 (86-93%)	
	138 / 149 (87-96%)	132 / 143 (87-96%)	119 / 136 (82-93%)	53 / 62 (75-92%)	157 / 173 (86-95%)	79 / 91 (78-92%)
- аномальная сингамия (1pn, ≥3pn)	22 / 292 (5-11%)		26 / 198 (8-18%)		28 / 264 (7-14%)	
	11 / 149 (4-13%)	11 / 143 (4-13%)	17 / 136 (7-18%)	9 / 62 (8-25%)	16 / 173 (5-14%)	12 / 91 (8-22%)
Количество «top» эмбрионов на 3-е сутки; M±m (Me; Q1-Q3)	2,4±0,2 (3,0; 1,0-3,5)		2,1±0,6 (1,0; 0-1,0)		2,5±0,4 (2,0; 0,8-4,0)	
	2,1±0,3 (2,5; 1,0-3,0)	2,9±0,3 (3,0; 2,0-4,0)	2,2±0,8 (1,0; 0-1,0)	1,9±0,6 (1,0; 0-4,0)	3,1±0,6 (4,0; 0-4,0)	1,7±0,5 (1,0; 1,0-2,0)
Количество «top» бластоцист на 5-е сутки; M±m (Me; Q1-Q3)	0,7±0,1 (1,0; 0-1,0)		0,6±0,2 (0; 0-1,0)		0,7±0,2 (0; 0-1,0)	
	0,7±0,1 (1,0; 0-1,0)	0,7±0,3 (0; 0-2,0)	0,7±0,2 (0; 0-1,5)	0,4±0,2 (0; 0-0)	1,1±0,3 (0; 0-2,0)	0,3±0,1 (0; 0-1,0)
Эмбриоперенос, абс. n (95% ДИ): - 3 сутки	39 (38-60%)		25 (38-66%)		28 (28-50%)	
	13 (22-51%)	26 (46-74%)	14 (31-66%)	11 (36-77%)	14 (24-54%)	14 (26-56%)
- 5 сутки	23 (20-39%)		8 (9-30%)		9 (7-22%)	
	14 (24-54%)	9 (11-35%)	8 (15-46%)	0 (0-17%)	5 (6-28%)	4 (5-26%)
- криоперенос	14 (11-27%)		11 (13-37%)		23 (22-43%)	
	8 (11-37%)	6 (7-27%)	7 (12-42%)	4 (9-43%)	14 (24-54%)	9 (14-42%)

Выше приведённые сравнения обуславливали возможность проведения только попарных сравнений в каждой группе (IA-IB, IIA-IIIB, IIIA-IIIB) в зависимости от возраста (критерий Манна-Уитни с критическим $p=0,050$). Вне зависимости от фактора бесплодия количество пунктированных фолликулов оказывалось ниже в возрасте 35-45 лет в 1,5 раза по сравнению с таковым в возрасте 21-34 года: при СЭ $Me=5,0$ vs $Me=9,0$ ($U=432,0$, $z=-3,5$, $p<0,001$), при окклюзии $Me=5,0$ vs $Me=9,0$ ($U=170,0$, $z=-2,2$, $p=0,026$), при ановуляции $Me=3,0$ vs $Me=9,0$ ($U=379,0$, $z=-3,1$, $p=0,002$).

Среднее количество полученных овоцитов у всех исследуемых ($n=200$) составило 6,4 (от 0 до 23), что составило 73,3% от количества пунктированных фолликулов. Н-тест Краскела-Уоллиса показал одинаковое количество полученных овоцитов в группах I, II и III в целом ($H_{(2)}=1,0$, $p=0,619$) и при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA ($H_{(2)}=2,6$, $p=0,273$) и IB, IIB, IIIB ($H_{(2)}=3,9$, $p=0,143$). Выше приведённые сравнения обуславливали возможность проведения только попарных сравнений в каждой группе (IA-IB, IIA-IIIB, IIIA-IIIB) в зависимости от возраста (критерий Манна-Уитни с критическим $p=0,050$). Вне зависимости от фактора бесплодия количество полученных овоцитов оказывалось ниже в возрасте 35-45 лет в 1,5 раза по сравнению с таковым в возрасте 21-34 года: при СЭ $Me=4,0$ vs $Me=5,0$ ($U=580,0$, $z=-2,1$, $p=0,036$), при окклюзии $Me=3,0$ vs $Me=8,0$ ($U=158,0$, $z=-2,5$, $p=0,013$), при ановуляции $Me=3,0$ vs $Me=9,0$ ($U=317,0$, $z=-3,8$, $p<0,001$). Количество полученных овоцитов соответствовало ответу на стимуляцию (количеству пунктированных фолликулов), что проявлялось наличием сильной положительной значимой корреляции при сравнении всех групп ($r_s=0,934$, $p<0,001$), и свидетельствовало о приоритете возрастного критерия перед формой бесплодия.

В возрасте старше 35 лет у 2-х (95%ДИ: 3-31%) пациенток с окклюзией маточных труб (IIB) и 2-х (95%ДИ: 2-19%) женщин с хронической ановуляцией (IIIB) овоцитов при трансвагинальной пункции фолликулов не получено, однако результат при сравнениях (IB, IIB, IIIB) незначим ($\Lambda\chi^2_{(2)}=5,2$, $p=0,073$). Выход овоцитов оказывался значимо более высоким при билатеральной СЭ в возрасте

35-45 лет по сравнению с таковым в 21-34 года: $Me=81,3\%$ vs $Me=61,1\%$ ($U=397,0$, $z=-3,9$, $p<0,001$), соответственно; одинаковым в группах «окклюзия» и «ановуляция»: $Me=62,5\%$ vs $Me=85,7\%$ ($U=205,0$, $z=-1,5$, $p=0,132$) и $Me=66,7\%$ vs $Me=75,0\%$ ($U=567,0$, $z=-0,9$, $p=0,358$), соответственно. Между количеством пунктированных фолликулов и долей получения (выходом) овоцитов отмечалась значимая отрицательная корреляция средней силы ($r_s=-0,501$, $p=0,001$ для группы «сальпингэктомия» после 35 лет).

Анализ морфологии половых клеток показал, что доля (MLE) зрелых (МП) составляла 67,5%, незрелых (MI, GV) – 17,3%, дегенеративных (atr) – 15,3%. Вне зависимости от фактора бесплодия установлены отрицательные корреляции между ФСГ и МП ($r_s=-0,348$, $p<0,001$), АМГ и долей МП ($r_s=-0,254$, $p=0,001$), положительные между E_2 и МП ($r_s=0,163$, $p=0,002$).

И Краскела-Уоллиса демонстрировал одинаковую долю зрелых и незрелых овоцитов в группах I, II и III в целом ($H_{(2)}=1,2$, $p=0,543$ и $H_{(2)}=3,0$, $p=0,223$, соответственно). Доля дегенеративных овоцитов могла различаться ($H_{(2)}=7,9$, $p=0,020$). Post hoc тесты Манна-Уитни для atr различий при сравнениях I-II, I-III и II-III не выявили ($U=1805,0$, $z=-0,6$, $p=0,568$; $U=2872,0$, $z=-0,1$, $p=0,976$; $U=1638,0$, $z=-0,5$, $p=0,625$, соответственно). Дальнейшие исследования подтвердили одинаковую частоту тех или иных типов клеток вне зависимости от фактора бесплодия. В возрасте 21-34 года (IA, IIA, IIIA) доля всех типов половых клеток оказывалась одинаковой ($H_{(2)}=3,0$, $p=0,219$; $H_{(2)}=3,1$, $p=0,208$; $H_{(2)}=3,6$, $p=0,165$, последовательно для МП, MI и GV, atr). Аналогичные результаты получены для возрастных подгрупп 35-45 лет (IB, IIB, IIIB): $H_{(2)}=0,2$, $p=0,925$; $H_{(2)}=1,9$, $p=0,388$; $H_{(2)}=3,7$, $p=0,155$, соответственно.

Сравнение разных типов овоцитов в каждой группе в зависимости от возраста выявило значимо более высокую долю зрелых половых клеток при билатеральной СЭ в возрасте 35-45 лет по сравнению с таковым в 21-34 года: $Me=75,0\%$ vs $Me=72,7\%$ ($U=569,0$, $Z=-2,2$, $p=0,028$). При этом доля незрелых и атретических клеток оказывалась одинаковой: $Me=0\%$ vs $Me=20,0\%$ ($U=625,5$, $z=-1,7$, $p=0,089$) и $Me=0\%$ vs $Me=16,7\%$ ($U=683,0$, $z=-1,2$, $p=0,242$).

При билатеральной окклюзии доля зрелых и дегенеративных клеток оказывалась одинаковой в возрастных группах до и после 35 лет: $Me=60,0\%$ vs $Me=70,0\%$ ($U=168,5$, $z=-1,8$, $p=0,072$) и $Me=20,0\%$ vs $Me=10,0\%$ ($U=189,0$, $z=-1,3$, $p=0,185$), соответственно. Доля незрелых клеток оказывалась значимо ниже в возрасте 35-45 лет ($Me=0\%$) по сравнению с таковой в 21-34 года ($Me=16,7\%$; $U=152,0$, $z=-2,2$, $p=0,027$).

При хронической ановуляции доля зрелых клеток оказывалась значимо выше, незрелых и дегенеративных значимо ниже в возрасте 35-45 лет по сравнению с таковым в 21-34 года: $Me=66,7\%$ vs $Me=50,0\%$ ($U=311,0$, $z=-3,6$, $p<0,001$), $Me=0\%$ vs $Me=20,0\%$ ($U=435,0$, $z=-2,1$, $p=0,033$) и $Me=0\%$ vs $Me=16,7\%$ ($U=404,0$, $z=-2,6$, $p=0,009$), соответственно. При хронической ановуляции в возрасте 35-45 лет выявлены значимые сильная положительная корреляция между количеством полученных овоцитов и долей незрелых овоцитов ($r_s=0,710$, $p<0,001$), отрицательная средней силы между количеством полученных овоцитов и долей зрелых овоцитов ($r_s=-0,463$, $p=0,007$).

Анализ сингамии. Среднее количество оплодотворённых овоцитов у всех исследуемых ($n=200$) составило 4,8 (от 0 до 18). Сингамия отсутствовала в 16,4% (MLE) случаев, что в среднем составило 0,9 неоплодотворённых овоцитов на пациентку. Среднее количество 2pn и 1pn, $\geq 3pn$ составило 3,7 (74,8%) и 0,4 (6,6%) на пациентку соответственно. Корреляции между АМГ и долей 2pn не выявлено ($r_s=0,059$, $p=0,455$). Н Краскела-Уоллиса демонстрировал одинаковое количество оплодотворённых, неоплодотворённых овоцитов, долю 0pn, 2pn и 1pn, $\geq 3pn$ в группах I, II и III в целом ($H_{(2)}=1,5$, $p=0,480$; $H_{(2)}=3,6$, $p=0,161$; $H_{(2)}=2,1$, $p=0,343$; $H_{(2)}=4,3$, $p=0,115$; $H_{(2)}=3,6$, $p=0,162$, соответственно), при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA ($H_{(2)}=3,0$, $p=0,219$; $H_{(2)}=1,8$, $p=0,416$; $H_{(2)}=0,4$, $p=0,814$; $H_{(2)}=1,1$, $p=0,568$; $H_{(2)}=0,5$, $p=0,777$, соответственно), и IB, IIB, IIIB ($H_{(2)}=1,2$, $p=0,561$; $H_{(2)}=3,4$, $p=0,184$; $H_{(2)}=4,9$, $p=0,085$; $H_{(2)}=3,3$, $p=0,194$; $H_{(2)}=5,1$, $p=0,080$, соответственно). Выше приведённые сравнения обуславливали возможность проведения только попарных сравнений в каждой группе (IA-IB, IIA-IIB, IIIA-IIIB) в зависимости от возраста (критерий Манна-Уитни с критическим $p=0,050$).

При билатеральной СЭ среди изучаемых параметров только количество оплодотворённых овоцитов в возрасте 35-45 лет ($Me=7,0$) оказывалось значимо выше такового в 21-34 года ($Me=5,0$; $U=587,0$, $z=-2,0$, $p=0,041$). Количество неоплодотворённых овоцитов, их доля, а также доли $2pn$, $1pn$ и $\geq 3pn$ значимо не отличались: $Me=0,6$ vs $Me=0,7$ ($U=733,0$, $z=-0,7$, $p=0,500$), $Me=0\%$ vs $Me=14,3\%$ ($U=776,5$, $z=-0,2$, $p=0,848$), $Me=87,5\%$ vs $Me=80,0\%$ ($U=676,0$, $z=-0,5$, $p=0,653$), $Me=0\%$ vs $Me=0\%$ ($U=720,0$, $z=-0,9$, $p=0,346$), соответственно.

При окклюзии маточных труб количество оплодотворённых, неоплодотворённых овоцитов, доли $0pn$, $2pn$, $1pn$ и $\geq 3pn$ оказывались одинаковыми в возрасте до и после 35 лет: $Me=5,0$ vs $Me=6,0$ ($U=204,0$, $z=-1,0$, $p=0,330$), $Me=1,0$ vs $Me=1,0$ ($U=211,0$, $z=-0,9$, $p=0,378$), $Me=12,5\%$ vs $Me=14,3\%$ ($U=235,0$, $z=-0,3$, $p=0,789$), $Me=83,3\%$ vs $Me=71,4\%$ ($U=199,0$, $z=-0,5$, $p=0,643$), $Me=0\%$ vs $Me=11,0\%$ ($U=200,0$, $z=-0,5$, $p=0,636$), соответственно.

При хронической ановуляции в возрасте 35-45 лет количество оплодотворённых овоцитов ($Me=6,0$) оказывалось ниже и доля $0pn$ выше ($Me=15,4\%$) таковых в 21-34 года ($Me=5,0$; $U=295,0$, $z=-3,2$, $p=0,001$ и $Me=11,1\%$; $U=444,5$, $z=-2,0$, $p=0,045$), соответственно. Количество неоплодотворённых овоцитов, доли $2pn$, $1pn$ и $\geq 3pn$ значимо не отличались: $Me=1,0$ vs $Me=1,0$ ($U=548,0$, $z=-0,8$, $p=0,433$), $Me=66,7\%$ vs $Me=70,0\%$ ($U=442,0$, $z=-0,5$, $p=0,604$), $Me=0\%$ vs $Me=0\%$ ($U=513,0$, $z=-0,5$, $p=0,635$), соответственно.

Анализ таблицы 4.1.4.1 позволял заключить, что *эмбриоперенос* состоялся только у 180 пациенток всех групп, одинаково часто не был проведён в зависимости от группы бесплодия ($\chi^2_{(2)}=5,9$, $p=0,052$), и в возрасте до 35 лет (IA, IIA, IIIA: $\Lambda\chi^2_{(2)}=4,9$, $p=0,088$). В возрасте после 35 лет частота несостоявшегося переноса в группах бесплодия различалась ($\chi^2_{(2)}=6,0$, $p=0,049$). Согласно точному критерию Фишера значимые отличия выявлены только между группами бесплодия «сальпингэктомия» (IB) и «ановуляция» (IIIB; $p=0,037$). Сравнения IB-IIIB и IIB-IIIB оказывались незначимыми ($p=0,066$ и $p=1,000$, соответственно). При сравнении только возрастного критерия вне зависимости от фактора бесплодия (IA, IIA, IIIA vs IB, IIB, IIIB) показана более высокая

частота переноса эмбрионов в возрасте 21-34 лет ($\chi^2_{(1)}=4,113$, $p=0,043$). Анализ критерием Фишера показал одинаковую частоту отсутствия эмбриопереноса в группах IA-IB и IIIA-IIIB ($p=1,000$ и $p=0,146$, соответственно). При «окклюзии» в возрасте старше 35 лет (IIB) частота переноса эмбрионов ниже по сравнению с таковой в возрасте до 35 лет (IIA; $p=0,020$).

Причинами несостоявшегося переноса эмбрионов были отсутствие овоцитов при пункции у 4 пациенток (95%ДИ: 8-42%), отсутствие оплодотворения у 2 женщин (95%ДИ: 3-30%), аномальное оплодотворение единственного овоцита у 2 пациенток (95%ДИ: 3-30%), отсутствие дробления или эмбрионы «плохого» качества для переноса у 12 женщин (95%ДИ: 39-78%).

Таким образом, в возрасте старше 35 лет существовал больший риск того, что эмбриоперенос не состоится, так как имела место значимая прямая зависимость между частотой проведения эмбриопереноса и количеством полученных овоцитов ($r_s=0,526$, $p<0,001$), количеством зрелых половых клеток ($r_s=0,508$, $p<0,001$), количеством нормально оплодотворённых овоцитов ($r_s=0,447$, $p<0,001$), а результаты предыдущих сравнений демонстрировали снижение указанных эмбриологических показателей в старшей возрастной группе. Различия между частотой переноса в возрасте старше 35 лет между группами IB и IIIB, вероятно, случайны, так как абсолютное количество случаев несостоявшегося переноса в группах невелико.

Анализ дробления. Среднее количество эмбрионов на 3-е сутки у всех исследуемых ($n=200$) составило 4,6 (от 1 до 10), 5-е сутки – 3,1 (от 0 до 9). Результат удовлетворительный, так как количество оплодотворённых овоцитов составляло 4,8. При этом количество эмбрионов «top» качества составляло всего 2,1 и 0,6 / пациентку (3-е и 5-е сутки, соответственно). Выход бластоцист с высоким шансом имплантации был равным 13%. Корреляции между АМГ и количеством эмбрионов «top» качества не выявлено ($r_s=0,073$, $p=0,359$).

Н Краскела-Уоллиса демонстрировал одинаковое количество эмбрионов «top» качества на 3-е и 5-е сутки в группах I, II и III в целом ($H_{(2)}=0,1$, $p=0,959$ и $H_{(2)}=2,2$, $p=0,327$, соответственно), при делении на подгруппы IA, IIA, IIIA

($H_{(2)}=0,4$, $p=0,812$ и $H_{(2)}=1,0$, $p=0,597$, соответственно), и IB, ПB, ШB ($H_{(2)}=0,3$, $p=0,854$ и $H_{(2)}=2,0$, $p=0,372$, соответственно). Показано, что возраст вне зависимости от фактора бесплодия (сравнение IA, ПА, ША – IB, ПB, ШB) влиял на общее количество эмбрионов на 3-е сутки ($U=2898,0$, $z= -3,3$, $p=0,001$), не влиял – на 5-е сутки ($U=988,5$, $z= -1,9$, $p=0,062$). Незначимым оказывалось воздействие данного фактора на количество эмбрионов отличного качества на 3-е и 5-е сутки ($U=3756,0$, $z= -0,8$, $p=0,419$; $U=1073,0$, $z= -1,8$, $p=0,069$, соответственно критерием Манна-Уитни с критическим $p=0,050$).

Перенос эмбрионов в полость матки у пациенток всех групп ($n=180$) осуществлялся на 3-е сутки (44-58%), 5-е сутки (16-28%). 48 (20-33%) пациентам проведена витрификация эмбрионов с последующим криопереносом по причине риска СГЯ. На 3-е сутки отмечался высокий процент эмбриопереноса (MLE=65,4%; 95% ДИ: 44-58%) среди всех свежих переносов. Установлена более высокая частота переноса эмбрионов на 5 сутки в возрасте 21-34 лет (IA, ПА, ША) по сравнению с таковой в 35-45 лет (IB, ПB, ШB; $\chi^2_{(2)}=7,0$, $p=0,030$), что, обусловлено лучшим качеством эмбрионов в этой возрастной группе.

Анализ таблиц сопряженности, χ^2 Пирсона, отношение правдоподобия показали значимое изменение в частоте *витрификации* в группах I, II, III в целом ($\chi^2_{(2)}=6,9$, $p=0,032$), при отсутствии таковой в зависимости от возраста (IA, ПА, ША vs IB, ПB, ШB; $\chi^2_{(1)}=1,1$, $p=0,289$), (IA vs ПА vs ША; $\chi^2_{(2)}=3,8$, $p=0,153$), (IB vs ПB vs ШB; $\chi^2_{(2)}=3,4$, $p=0,185$), что указывало только на зависимость между выбором заморозки эмбрионов и фактором бесплодия. Точный критерий Фишера демонстрировал более частую витрификацию эмбрионов при хронической ановуляции (MLE=38,3%) по сравнению с таковой при билатеральной СЭ (MLE=18,4%; $p=0,012$). Однако сравнение частот выполнения метода между I-II и II-III показывали равнозначный результат ($p=0,485$ и $p=0,205$, соответственно). Таким образом, при хронической ановуляции имела место тенденция к более частой заморозке эмбрионов в протоколах ВРТ, что закономерно, так как частота витрификации при данном факторе бесплодия имела высокую степень сопряжения с эффективностью стимуляции

(количеством пунктируемых фолликулов и полученных овоцитов – $r_s=0,849$, $p<0,001$ и $r_s=0,766$, $p<0,001$, соответственно) и исходными параметрами ОР (АМГ – $r_s=0,403$, $p=0,003$). Однако данная зависимость выявлена также при трубном бесплодии (вне зависимости от проведения СЭ) ($r_s=0,706$, $p<0,001$; $r_s=0,564$, $p<0,001$; $r_s=0,347$, $p<0,001$, соответственно).

Согласно сравнениям критерием Фишера вне зависимости от возраста и фактора бесплодия выбор времени эмбриопереноса (3-и или 5-е сутки) не влиял на частоту имплантации ($p=0,657$), беременности на перенос ($p=0,192$), живорождения ($p=0,229$).

Анализ таблиц сопряженности, χ^2 Пирсона, отношение правдоподобия не показали значимого изменения в частотах выбора варианта эмбриопереноса (3-е, 5-е сутки, криоперенос) в группах I, II, III в целом ($\chi^2_{(4)}=9,5$, $p=0,050$), так и между возрастными подгруппами IA, IIА, IIIА ($\chi^2_{(4)}=6,9$, $p=0,143$), IB, IВ, IIВ ($\chi^2_{(4)}=9,0$, $p=0,060$). Согласно сравнениям критерием Фишера вне зависимости от возраста и фактора бесплодия вариант эмбриопереноса (свежий или КРИО) не влиял на частоту имплантации ($p=0,675$) и живорождения ($p=0,188$), однако приводил к более высокой частоте клинической беременности на цикл ($p=0,011$).

4.1.5. Оценка эффективности вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с трубной и эндокринной формами бесплодия

Эффективность применения ВРТ в исследуемых группах оценивалась по частотам «бедного ответа», наступления беременности и её исходов. Данные представлены в таблице 4.1.5.1. Частота «потенциально бедного ответа» в возрасте старше 35 лет 100%. В возрасте 21-35 лет (IA, IIА, IIIА) частота «потенциально бедного ответа» составила 48 / 103 (95%ДИ: 37-56%), значимо отличалась в зависимости от группы бесплодия ($\chi^2_{(2)}=8,3$, $p=0,016$; χ^2 Пирсона). Так, частота прогнозируемого ответа на стимуляцию при СЭ (MLE=64,9%) оказывалась значимо более высокой, чем при хронической ановуляции (MLE=32,4%; $p=0,010$), одинаковой – при окклюзии маточных труб (MLE=41,4%; $p=0,082$) согласно вычислению точного критерия Фишера.

Сравнения ПА-ША также демонстрировали равнозначный результат ($p=0,607$). Вне зависимости от фактора бесплодия в молодом репродуктивном возрасте выделение категории «потенциально бедный ответ» определяло отдельные исходы ВРТ (согласно точному критерию Фишера): беременность на начатый цикл ($p=0,002$) и перенос ($p=0,008$), живорождение ($p=0,005$), однако взаимосвязь с имплантацией ($p=0,057$) и неразвивающейся беременностью ($p=0,499$) отсутствовала.

Таким образом, возможно, радикальное оперативное вмешательство на маточных трубах следовало рассматривать в качестве комплексного предиктора «потенциально бедного ответа». Для проверки данной гипотезы проведены сравнения частоты собственно «бедного ответа» согласно болонским критериям уже на основе проведённой стимуляции.

De facto оказалось, что частота «бедного ответа» ниже, составляет 44 / 200 (95%ДИ: 16-28%), однако также значительно отличается в зависимости от группы бесплодия (I, II, III; $\chi^2_{(2)}=8,5$, $p=0,014$; χ^2 Пирсона). Между группами I и II в целом точный критерий Фишера демонстрировал одинаковую частоту ответа на стимуляцию ($p=0,806$). Показана значимо более низкая частота «бедного ответа» при билатеральной СЭ (MLE=15,0%) и почти значимая при окклюзии маточных труб (MLE=16,7%) по сравнению с таковой при хронической ановуляции (MLE=33,3%; $p=0,012$ и $p=0,058$, соответственно). Таким образом, предположение о более низком ответе на стимуляцию при СЭ после проведённого протокола ВРТ не подтвердилось, наоборот, установлена более высокая частота «бедного ответа» при хронической ановуляции, несмотря на хорошие показатели ОР в этой группе. Далее проведены сравнения χ^2 Пирсона и точным критерием Фишера внутри каждой возрастной группы между факторами бесплодия. Показано, что существенное значение фактор бесплодия начинал иметь с возраста 35 лет. То есть до 35 лет сравнение частот между группами IA-ПА-ША незначимо ($\Lambda\chi^2_{(2)}=0,1$, $p=0,960$), а после 35 лет (IB-ПВ-ПШВ) значимо ($\chi^2_{(2)}=13,3$, $p=0,001$). При этом между частотами в IB и ПВ разницы нет ($p=0,538$), а между IB и ПШВ, ПВ-ПШВ есть ($p=0,001$ и $p=0,045$, соответственно).

Таблица 4.1.5.1. Эффективность вспомогательных репродуктивных технологий

Показатель	Группа I (n=80)		Группа II (n=48)		Группа III (n=72)	
	Группа IA (n=37)	Группа IB (n=43)	Группа IIA (n=29)	Группа IIB (n=19)	Группа IIIA (n=37)	Группа IIIB (n=35)
«Бедный ответ»; абс. n (95% CI)	12 (9-24%)		8 (9-30%)		24 (24-45%)	
	2 (2-18%)	10 (13-38%)	2 (2-22%)	6 (15-54%)	2 (2-18%)	22 (46-77%)
«Потенциально бедный ответ»; абс. n (95% CI)	67 (74-90%)		31 (50-77%)		47 (54-75%)	
	24 (49-78%)	43 (92-100%)	12 (26-59%)	19 (83-100%)	12 (20-49%)	35 (90-100%)
Беременность на начатый цикл; абс. n (95% CI)	29 (27-47%)		17 (23-50%)		28 (28-50%)	
	15 (26-57%)	14 (20-47%)	12 (26-59%)	5 (12-49%)	20 (38-69%)	8 (12-39%)
Беременность на перенос эмбрионов; абс. n (95% CI)	29 (27-47%)		17 (23-50%)		28 (28-50%)	
	15 (26-57%)	14 (20-47%)	12 (26-59%)	5 (12-49%)	20 (38-69%)	8 (12-39%)
Имплантация эмбрионов; абс. n (95% CI)	12 (9-24%)		5 (5-22%)		8 (6-20%)	
	8 (11-37%)	4 (4-22%)	4 (6-31%)	1 (1-25%)	5 (13,5%)	3 (3-22%)
Прерывание беременности; абс. n (95% CI)	4 (2-12%)		2 (1-14%)		5 (3-15%)	
	0 (0-9%)	4 (4-22%)	2 (2-22%)	0 (0-17%)	5 (6-28%)	0 (0-10%)
Внематочная беременность; абс. n (95% CI)	0 (0-5%)		2 (1-14%)		1 (1-7%)	
	0 (0-9%)	0 (0-8%)	1 (1-17%)	1 (1-25%)	1 (0-14%)	0 (0-10%)
«Take baby home»; абс. n (95% CI)	25 (22-42%)		13 (17-41%)		22 (21-42%)	
	15 (26-57%)	10 (13-38%)	9 (17-49%)	4 (9-43%)	14 (24-54%)	8 (12-39%)

Как и предполагалось, анализ четырёхпольной таблицы сопряжённости и точный критерий Фишера установили значимо более высокую частоту «бедного ответа» в группах после 35 лет (MLE=39,2%; IB, IB, IB) по сравнению с таковой в 21-35 лет (MLE=5,8%; IA, IA, IA; $p < 0,001$). Далее проведены сравнения точным критерием Фишера в каждой группе в зависимости от возраста (до и после 35 лет). Общая тенденция подтверждена для каждой группы: СЭ ($p=0,031$), окклюзия ($p=0,045$), ановуляция ($p < 0,001$). Таким образом, возраст являлся одним из наиболее важных предикторов ответной реакции яичников на стимуляцию. В возрасте 21-34 лет причина бесплодия не имеет значение, а после 35 лет вносит существенный вклад. Несмотря на низкие показатели ОР, трубное бесплодие (билатеральная СЭ в большей степени, чем окклюзия маточных труб) может снизить частоту «бедного ответа» в возрастной группе 35-45 лет.

Несмотря на то, что условия ответной реакции яичников ESHRE и предложенная категория «потенциально бедный ответ» по некоторым критериям совпадают, исследована взаимосвязь между ними. Точный критерий Фишера показал высокое сопряжение ($p < 0,001$). Категория «бедный ответ» определяла отдельные исходы ВРТ (согласно точному критерию Фишера): беременность на начатый цикл ($p=0,004$) живорождение ($p=0,009$), однако взаимосвязь с имплантацией ($p=0,301$), неразвивающейся ($p=1,0$) и клинической беременностью на перенос ($p=0,104$) отсутствовала.

Следующим этапом работы проведено сравнение собственно результативности ЭКО. Средняя частота имплантации (только биохимическая беременность), частоты беременности на начатый цикл и на эмбриоперенос составили 25 / 200 (95%ДИ: 8-17%), 74 / 200 (95%ДИ: 30-44%), 74 / 180 (95%ДИ: 34-48%), соответственно.

Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона показали, что частота имплантации, беременности на начатый цикл / перенос одинаковы вне зависимости от фактора бесплодия и возраста (сравнение I vs II vs III): $\chi^2_{(2)}=0,8$, $p=0,679$; $\chi^2_{(2)}=0,2$, $p=0,913$; $\chi^2_{(2)}=1,2$, $p=0,563$, соответственно. Аналогичные результаты демонстрировали сравнения IA vs IA vs IA: $\chi^2_{(2)}=1,1$, $p=0,578$; $\chi^2_{(2)}$

=1,7, $p=0,437$; $\chi^2_{(2)}=3,0$, $p=0,226$, соответственно; и IB vs IIВ vs IIIВ: $\chi^2_{(2)}=1,1$, $p=0,578$; $\chi^2_{(2)}=1,7$, $p=0,437$; $\chi^2_{(2)}=3,0$, $p=0,226$, соответственно.

Точный критерий Фишера установил, что возраст не влиял на частоту имплантации в группах (сравнение IA-IIA-IIIА vs IB, IIВ, IIIВ; $p=0,090$), однако обуславливал более высокую частоту наступления беременности на цикл и на перенос ($p=0,013$ и $p=0,034$, соответственно). Только при хронической ановуляции возраст 21-34 года приводил к более высокой частоте наступления беременности (на цикл и эмбриоперенос) по сравнению с таковой в 35-45 лет (MLE): 54,1% vs 22,9% ($p=0,008$), 60,6% vs 29,6% ($p=0,021$), соответственно. Частота имплантации в группе оказывалась одинаковой (MLE): 13,5% vs 8,6% ($p=0,711$). При трубном бесплодии частоты имплантации и беременности были выше в возрасте до 35 лет в 1,2-2,0 раза, однако незначимо. Так при билатеральной СЭ до и после 35 лет составили (MLE): 21,6% vs 9,3% ($p=0,208$), 40,5% vs 32,6% ($p=0,492$), 42,9% vs 34,1% ($p=0,484$), соответственно. При окклюзии маточных труб получены аналогичные результаты в возрасте до и после 35 лет (MLE): 13,8% vs 5,3% ($p=0,635$), 41,4% vs 26,3% ($p=0,363$), 41,4% vs 33,3% ($p=0,748$), соответственно.

Таким образом, возраст являлся ведущим прогностическим маркёром репродуктивного здоровья. Вне зависимости от причины бесплодия (трубное или эндокринное) в возрасте 21-34 года не только риск гипоэргической реакции яичников низкий (сравнение частот в разных возрастных группах), но и наличие «бедного ответа» не влияло на частоту наступления беременности (отсутствие корреляции Спирмена между этими параметрами; $r_s = -0,061$, $p=0,538$). В возрасте 35-45 лет наличие «бедного ответа» уже приводило к снижению частоты наступления беременности (отрицательная значимая корреляция Спирмена между этими параметрами; $r_s = -0,216$, $p=0,034$). При этом билатеральная СЭ, несмотря на сниженные показатели ОР (снижение E_2 , ингибина В, АМГ и повышение ФСГ) предотвращала «бедный ответ», что выражалось в практически одинаковых частотах имплантации и наступления беременности (сравнение частот в разных возрастных группах). После 35 лет при

наличии хронической ановуляции пациентки теряли незначительную часть ОР, однако достаточную для более частого выявления «бедного ответа» и, соответственно, значимого снижения частоты наступления беременности в группе.

Важным результатом ВРТ являлось не только наступление беременности, но и её исходы. Проведено сравнение частот *эктопической / прервавшейся беременности и живорождения* («take baby home»). Средняя частота живорождения составила 60 / 200 (95%ДИ: 24-36%), внематочной беременности – 3 / 200 (95%ДИ: 1-4%) и прерывания беременности – 11 / 200 (95%ДИ: 3-10%).

При анализе таблицы 4.1.5.1 обращает на себя внимание отсутствие эктопической беременности у женщин I группы, что закономерно, так как наиболее частая локализация внематочной беременности исключена (трубная). Вариантов шеечной и гетеротопической беременности в указанной группе не выявлено.

Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона, отношение правдоподобия показали, что частота живорождения и прерывания беременности в группах I, II, III совпадали: $\chi^2_{(2)}=0,3$, $p=0,876$ и $\Lambda\chi^2_{(2)}=0,5$, $p=0,784$, соответственно. Сравнение факторов бесплодия в возрасте до (IA vs IIA vs IIIA) и после 35 лет (IB vs IIB vs IIIB) установили одинаковую частоту «take baby home»: $\chi^2_{(2)}=0,7$, $p=0,721$ и $\chi^2_{(2)}=0,1$, $p=0,981$, соответственно. Предположено, что частота прерывания беременности при билатеральной СЭ в 21-34 года ниже, а в 35-45 лет выше таковых при других факторах бесплодия ($\Lambda\chi^2_{(2)}=7,3$, $p=0,026$ и $\Lambda\chi^2_{(2)}=6,7$, $p=0,035$, соответственно). Однако сравнения критерием Фишера в четырёхпольных таблицах демонстрировали отсутствие гипотетической зависимости: IA vs IIA ($p=0,189$), IA vs IIIA ($p=0,054$), IIA vs IIIA ($p=0,453$), IB vs IIB ($p=0,303$), IB vs IIIB ($p=0,123$), IIB vs IIIB (частота прерывания в обеих группах равна 0).

Сравнение частот живорождения и прерывания беременности точным критерием Фишера между возрастными группами до и после 35 (IA, IIA, IIIA vs IB, IIB, IIIB), выявили более низкую частоту живорождения в 35-45 лет (22 / 97;

95%ДИ: 15-32%) по сравнению с таковой в 21-34 года (38 / 103; 95%ДИ: 28-47%; $p=0,031$), при одинаковой частоте прерывания беременности (4 / 97; 95%ДИ: 2-10% vs 7 / 103; 95%ДИ: 3-13%, $p=0,539$). Таким образом, причина бесплодия не влияет на исходы беременности после ВРТ, однако чем старше пациентка, тем ниже вероятность живорождения (обратная значимая корреляция Спирмена: $r_s = -0,223$, $p=0,002$).

Для практического применения результатов проведённого исследования проведена оценка вероятности исхода (клинической беременности на цикл) у пациенток I и II групп (то есть группы «трубного бесплодия»), связанную с наличием фактора риска (СЭ).

Получены следующие результаты: $RR = 1,024$ (95% ДИ = 0,633; 1,654); $NNT = 120$; $Se = 63\%$; $Sp = 38\%$.

Так как интервал включал в себя «1», соответственно результат не являлся статистически значимым (на уровне доверительной вероятности 95%), однако ширина интервала давала четкое представление о значении относительного риска (в 95% случаев), и не позволял отнести результаты к маловажным, что наглядно демонстрировало бóльшую информативность интервальной оценки силы взаимосвязи по сравнению с проверкой статистических гипотез. «Число больных, которых необходимо лечить» указывало на то, что для увеличения клинической беременности на 1 случай в протоколах ВРТ требуется провести 120 СЭ у пациенток с трубным бесплодием. Однако чувствительность метода и его специфичность крайне малы: 63% и 38% соответственно. Таким образом, проведение СЭ при трубном бесплодии могло увеличивать вероятность наступления клинической беременности при проведении ВРТ только в 1,024 раза. Различия в 1,02 раза были справедливы только для нашей выборочной совокупности. Низкая эффективность проведённой операции могла быть обусловлена недостаточной репрезентативностью (по отношению к генеральной совокупности), а также влиянием неизвестных вмешивающихся факторов (конфаундеров). Один из таких предикторов низкой эффективности СЭ в результативности ВРТ был найден. Им оказалась длительность между

проведением радикальной операции на маточных трубах и собственно проведением программы ЭКО.

Установлена линейная ($\chi^2_{\text{для тренда}}=14,7, p<0,001$) отрицательная (γ Гудмена-Краскела = $-0,543, p<0,001$; d Сомерса = $-0,493, p<0,001$) взаимосвязь между временем от момента СЭ до протокола ВРТ и клинической беременности на цикл ($\Lambda\chi^2=35,9, p<0,001$). Аналогичная зависимость выявлена и для частоты живорождения ($\chi^2_{\text{для тренда}}=13,2, p<0,001$; γ Гудмена-Краскела = $-0,540, p<0,001$; d Сомерса = $-0,494, p<0,001$; $\Lambda\chi^2=41,7, p<0,001$). Для выяснения, какой именно период между оперативным лечением и протоколом ЭКО проведены дальнейшие сравнения. Показано, что при длительности до 3-х месяцев включительно взаимосвязь сохраняется ($p\leq 0,001$, точный критерий Фишера), до 6-и и более месяцев – нет ($p\geq 0,204$, точный критерий Фишера). Соответственно, максимальная эффективность СЭ в прогнозе живорождения наблюдается только, если ВРТ проводится не позже трёх месяцев после радикальной операции на маточных трубах вне зависимости от возраста.

Математическое моделирование. Заключительным этапом работы стала разработка прогностической модели эффективности ВРТ у пациенток с трубным бесплодием (группа хронической ановуляции из анализа исключена) на основе клиничко-анамнестических предикторов состояния ОР, а также установление роли нового концептуального оценочного параметра – билатеральной СЭ. Для построения диагностических решающих правил использовались бинарная логистическая регрессия и дискриминантный анализ.

Учитывая безусловную роль возрастного фактора первым этапом расчёта вероятностей наступления беременности и живорождения был установлен коэффициент бинарной логистической регрессии для этого предиктора. При значении $p<0,5$ предполагалось, что клиническая беременность / живорождение не наступит, в противном случае предполагалось наступление этих событий.

Для прогноза клинической беременности итоговое уравнение принимало вид: $z = 3,638 + (-0,126 * \text{возраст, годы})$. После добавления в модель переменной

возраст значение $-2LL$ (мера правдоподобия) = 157,186, что на 9,996 меньше начального. Проверка согласия Хосмера-Лемешева ($\chi^2_{(8)}=17,6$, $p=0,024$). Модель объясняла только 10,3% (r^2 Нэйджелкерка) дисперсии в исходе ВРТ и позволила правильно классифицировать 63% случаев (12% ложноотрицательных и 80% ложноположительных результатов). Увеличение возраста было связано с уменьшением вероятности беременности, однако в целом качество модели (значение $-2LL$, частота ложноположительных результатов) низкое.

Для прогноза «take baby home» итоговое уравнение принимало вид: $z = 3,814 + (-0,141 * \text{возраст, годы})$. После добавления в модель переменной возраст значение $-2LL$ (мера правдоподобия) = 144,458, что на 11,240 меньше начального. Проверка согласия Хосмера-Лемешева ($\chi^2_{(8)}=16,2$, $p=0,040$). Модель объясняла только 11,9% (r^2 Нэйджелкерка) дисперсии в исходе ВРТ и позволила правильно классифицировать 73% случаев (4% ложноотрицательных и 82% ложноположительных результатов). Увеличение возраста было связано с уменьшением вероятности живорождения, однако в целом качество модели (значение $-2LL$, частота ложноположительных результатов) низкое.

Пример 1. Перед планируемым протоколом ВРТ возраст пациентки составил 29 лет, тогда $z = 3,638 + (-0,126 * 29) = -0,016$, искомая вероятность наступления беременности: $p = 1 / (1 + e^{-0,016}) = 0,99$, то есть 99%.

Пример 2. Перед планируемым протоколом ВРТ возраст пациентки составил 27 лет, тогда $z = 3,814 + (-0,141 * 27) = 0,007$, искомая вероятность живорождения: $p = 1 / (1 + e^{-0,007}) = 1,0$, то есть ~100%.

После проведённого протокола ВРТ в примере №1 клиническая беременность наступила, в примере №2 не только не было живорождения, но и не наступила беременность. Качество модели низкое, а возраст не являлся изолированным предиктором репродуктивного здоровья.

Следующим шагом введён новый оценочный параметр – наличие билатеральной СЭ при трубном бесплодии (1 – да, 2 – нет). Тогда итоговое уравнение принимало вид: $z = 3,590 + (-0,127 * \text{возраст, годы}) + (0,122 * \text{СЭ})$ для прогноза клинической беременности. После добавления в модель переменной

возраст значение $-2LL$ (мера правдоподобия) = 157,092, что на 10,091 меньше начального. Проверка согласия Хосмера-Лемешева ($\chi^2_{(8)}=15,4$, $p=0,052$). Модель объясняла только 10,4% (r^2 Нэйджелкерка) дисперсии в исходе ВРТ (клиническая беременность) и позволила правильно классифицировать такую же долю случаев, как и при одной переменной (возраст) – 63% (16% ложноотрицательных и 76% ложноположительных результатов). Т.е. чувствительность модели осталась крайне низкой (24%), специфичность – высокой (85%). Увеличение возраста было связано с уменьшением вероятности беременности, наличие СЭ в 0,1 раза чаще приводило к клинической беременности, качество модели осталось также крайне низким и неприменимым на практике.

Итоговое уравнение для прогноза живорождения принимало вид: $z = 3,705 + (-0,144 * \text{возраст, годы}) + (0,323 * \text{СЭ})$. После добавления в модель переменной возраст значение $-2LL$ (мера правдоподобия) = 143,876, что на 11,821 меньше начального. Проверка согласия Хосмера-Лемешева ($\chi^2_{(8)}=9,8$, $p=0,281$). Модель объясняла только 12,5% (r^2 Нэйджелкерка) дисперсии в исходе ВРТ (живорождение) и позволила правильно классифицировать такую же долю случаев, как и при одной переменной (возраст) – 73% (4% ложноотрицательных и 72% ложноположительных результатов). Т.е. чувствительность модели осталась крайне низкой (18%), специфичность – высокой (96%). Увеличение возраста было связано с уменьшением вероятности беременности, наличие СЭ в 0,6 раза чаще приводило к живорождению, качество модели осталось также крайне низким и неприменимым на практике. Таким образом, концептуальный параметр «сальпингэктомия», равно как и изолированный «возраст» не могут использоваться в качестве меры результативности ВРТ.

Вторым этапом проведён дискриминантный анализ. Алгоритм включал пошаговый выбор набора переменных. Массив данных содержал клинико-анамнестические характеристики, показатели ОР 128 пациенток. Лучшими предикторами клинической беременности оказались: живорождение в анамнезе (1 - да, 0 - нет), ΣV_y (см³), E_2 (пмоль/л) и АМГ (нг/мл). Несмотря на большой

относительный собственный вклад указанных предикторов в дискриминацию для построения окончательного вида функции использовались основные маркёры ОР, которым уделялось большее внимание при клинической оценке исходного состояния, прогноза ответа на стимуляцию. Указанные предикторы являлись неотъемлемой частью подготовки к любому протоколу ВРТ, так как входили в стандарт обследования.

Учитывая, что полученная частота клинической беременности в работе (95% ДИ 28-44%) совпадала с таковой в генеральной совокупности (95% ДИ 33-36%)⁷ априорная вероятность наступления беременности для дискриминантного анализа вычислена по размерам групп. Для построения дискриминантной функции случайно отобрано 104 пациентки.

Итоговое уравнение для расчёта вероятности наступления беременности принимало вид: $d = -6,070 + (-0,053 \cdot \text{возраст}) + (0,181 \cdot \text{ИМТ}) + (-0,032 \cdot \text{длительность бесплодия}) + (0,088 \cdot \Sigma V) + (-0,054 \cdot \Sigma \text{КАФ}) + (0,242 \cdot \text{ФСГ}) + (-0,005 \cdot \text{ингибин В}) + (-0,179 \cdot \text{АМГ}) + (0,009 \cdot E_2)$.

Анализ коэффициентов канонической дискриминантной функции показал, что больший относительный собственный вклад переменной в дискриминацию внесли E_2 , ФСГ, ΣV_y и ИМТ; коэффициенты стандартизованной канонической дискриминантной функции – «1,257», «0,964», «0,792» и «0,784», соответственно. При выборе всех предикторов коэффициент канонической корреляции оказывался достаточно весомым в плане удачности разделения на классы ($r=0,795$), а λ Уилкса (0,368; $\chi^2_{(9)}=24,5$, $p=0,004$) указывала на значимое различие средних значений дискриминантной функции. Собственное значение (1,719) демонстрировало хорошо подобранные дискриминантные функции. Значения толерантности и VIF для всех предикторов удовлетворяло требованиям анализа ($>0,3$ и $<3,1$, соответственно). Однако ковариационные матрицы оказывались идентичными ($M \text{ Бокса} = 229,1$; $F_{(45)}=3,3$, $p<0,001$). Центроиды значений дискриминантной функции составили для наступления беременности

⁷ по данным мета-анализа рандомизированных контролируемых исследований [223]

«-1,397», отсутствия беременности «1,151». Модель обладала высокой чувствительностью (94%) и специфичностью (100%), позволяя с вероятностью 97% апостериорно прогнозировать наступление беременности (рис. 4.1.5.1). Кросс-проверка (априорная классификация) оставшихся 24 пациенток свидетельствовала о сохраняющейся высокой точности модели на новых образцах (91%; Se=83%, Sp=100%).

Пример 1. Перед планируемым протоколом ВРТ возраст пациентки составил 29 лет, ИМТ=19 кг/м², длительность бесплодия 4 года, $\Sigma V_{я}$ 12 см³, Σ КАФ 14 фолликулов, концентрации ФСГ 7 мЕд/мл, ингибина В 72 пг/мл, E₂ 61 пмоль/л и АМГ 4 нг/мл, причина бесплодия – изолированный трубный фактор, тогда: $d = -6,070 + (-0,053*29) + (0,181*19) + (-0,032*4) + (0,088*12) + (-0,054*14) + (0,242*7) + (-0,005*72) + (-0,179*4) + (0,009*61) = \sim -2,8$.

Пример 2. Перед планируемым протоколом ВРТ возраст пациентки составил 31 год, ИМТ=29 кг/м², длительность бесплодия 4 года, $\Sigma V_{я}$ 29 см³, Σ КАФ 8 фолликулов, концентрации ФСГ 8 мЕд/мл, ингибина В 41 пг/мл, E₂ 45 пмоль/л и АМГ 4 нг/мл, причина бесплодия – изолированный трубный фактор тогда: $d = -6,070 + (-0,053*31) + (0,181*29) + (-0,032*4) + (0,088*29) + (-0,054*8) + (0,242*8) + (-0,005*41) + (-0,179*4) + (0,009*45) = \sim 0,9$.

Опираясь на распределение значений дискриминантной функции с вероятностью 91% первую пациентку можно отнести к группе, в которой при использовании протокола с антаГнРГ наступила беременность, вторую – где не наступила. De facto прогнозируемые результаты совпали.

Далее предпринята попытка принудительного включения в дискриминантную функцию предиктора – «наличие сальпингэктомии» (1-да, 2-нет). Итоговое уравнение для расчёта наступления беременности принимало вид: $d = -6,025 + (-0,05*\text{возраст}) + (0,188*\text{ИМТ}) + (-0,035*\text{длительность бесплодия}) + (0,088*\Sigma V) + (-0,05*\Sigma \text{КАФ}) + (0,234*\text{ФСГ}) + (-0,004*\text{ингибин В}) + (-0,182*\text{АМГ}) + (0,009*E_2) + (-0,230*СЭ)$.

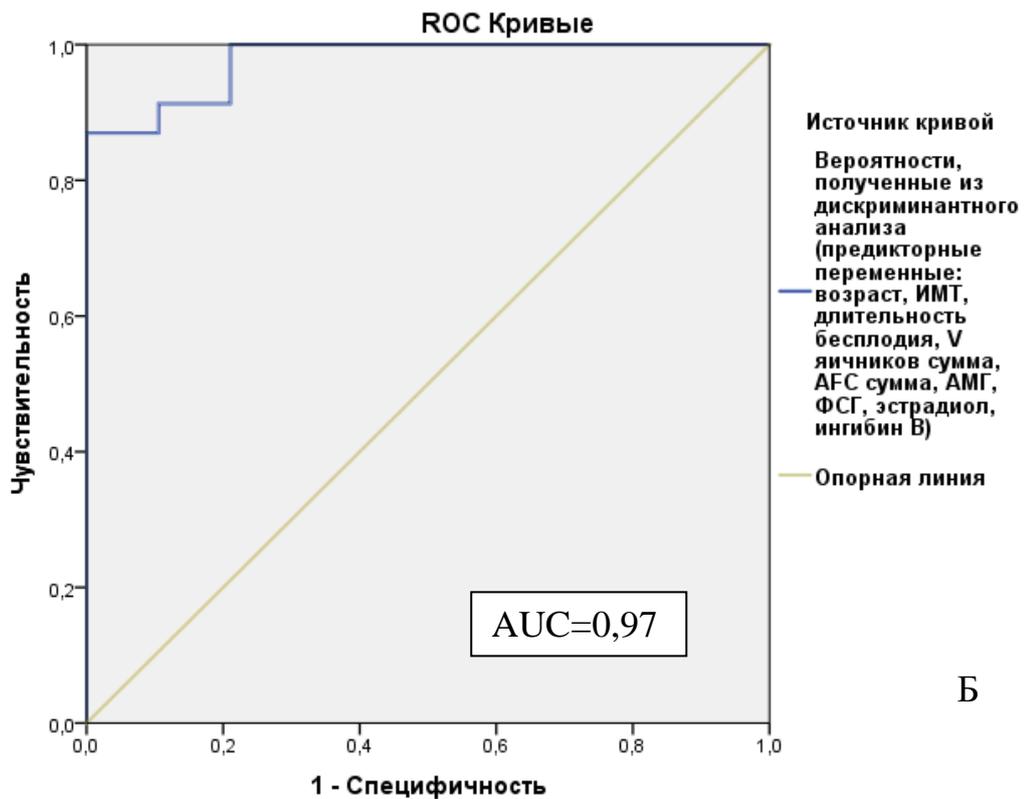
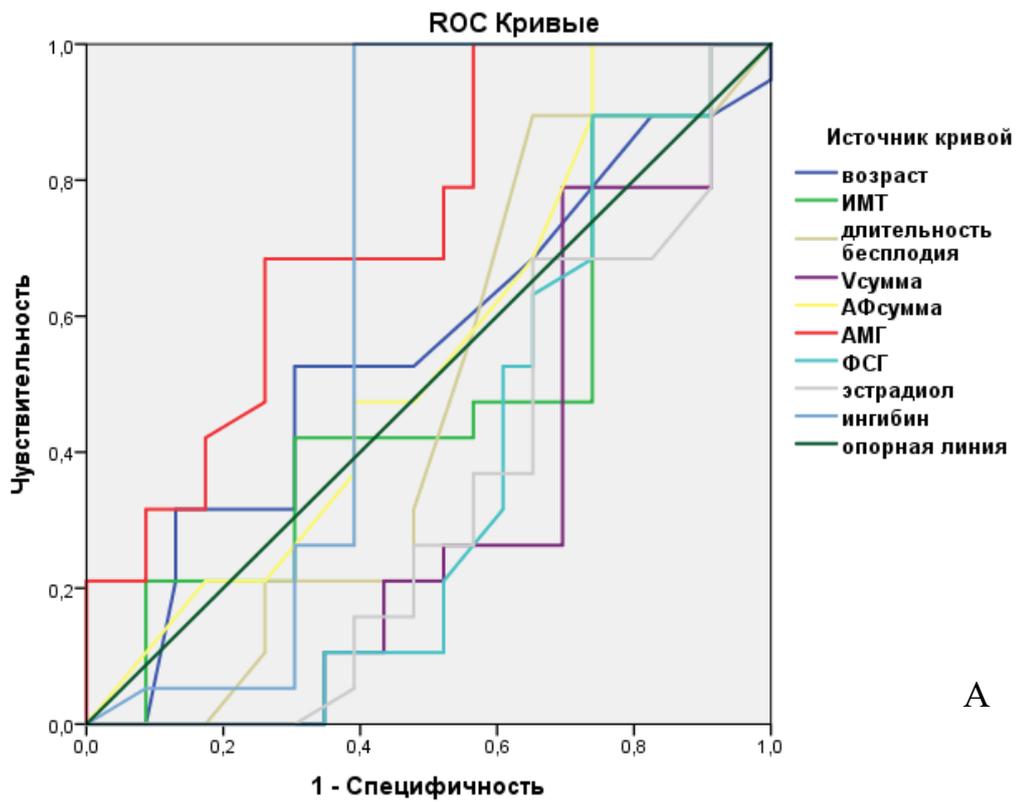


Рис. 4.1.5.1. Точность модели дискриминантного анализа для прогноза беременности на основе ROC-кривых: неудовлетворительное качество модели при изолированном вкладе предикторов (А), отличное качество модели за счёт мультипликативного эффекта предикторов (Б).

Анализ коэффициентов канонической дискриминантной функции показал, что «сальпингэктомия» имеет наименьший относительный собственный вклад в дискриминацию (-0,113). Коэффициент канонической корреляции и собственное значение дискриминантной функции остаются высокими ($r=0,797$ и $1,736$, соответственно), средние значения различимыми (λ Уилкса=0,366; $\chi^2_{(10)}=24,155$, $p=0,007$). Толерантность и VIF для СЭ удовлетворяют проведению анализа (0,7 и 1,4 для СЭ, соответственно). Точность модели (97%) и точности при кросс-проверке (91%; Se=83%, Sp=100%) абсолютно не изменились, что указывало на избыточность включённого маркёра.

Дискриминантные функции на основе клинико-анамнестических показателей также предложены для прогноза живорождения. Удивительным фактом оказывалось исключение «возраста» из конечной дискриминантной функции, так как данный предиктор не влиял на точность модели: $d = -6,668 + (0,18 \cdot \text{ИМТ}) + (-0,087 \cdot \text{длительность бесплодия}) + (0,065 \cdot \Sigma V) + (-0,064 \cdot \Sigma \text{КАФ}) + (0,217 \cdot \text{ФСГ}) + (0,002 \cdot \text{ингибин В}) + (-0,29 \cdot \text{АМГ}) + (0,009 \cdot E_2)$.

Средние значения дискриминантной функции составили «-1,525» для положительного прогноза, «1,102» – отрицательного. Вероятность прогноза живорождения оказывалась ниже, чем прогноза беременности (87% и 82% при кросс-проверке).

Таким образом, предложенные прогностические модели эффективности ВРТ на основе предикторов ОР могут использоваться у пациенток с трубным бесплодием. Вклад концептуального оценочного маркёра, билатеральной СЭ, в прогноз наступления беременности, живорождения не существенен. Однако, роль радикальной операции на маточных трубах на репродуктивное здоровье в долгосрочной перспективе остаётся неясной, так как выявлены некоторые изменения функции яичников. Что явилось одной из целей следующего раздела работы.

4.2. Результаты проспективного исследования пациенток с радикальными операциями на матке и маточных трубах

4.2.1. Исходная клинико-anamнестическая характеристика пациенток с оперативными вмешательствами

Основой настоящего исследования явилось изучение клинико-лабораторных параметров репродуктивного здоровья пациенток до и после ГЭ. Принципиальным в плане сравнительной характеристики и анализа было установление влияния не только оперативного лечения, но и различных объёмов вмешательств: субтотальная ГЭ без придатков vs таковой в сочетании с СЭ.

Основной группе (I) проведена субтотальная ГЭ с удалением маточных труб без яичников лапароскопическим доступом (n=28), группе сравнения (II) – удаление матки без придатков (n=22).

Средний возраст всех исследуемых (n=50) составил $48,1 \pm 0,4$ лет (минимум 40 и максимум 56 лет). Большинство пациенток – 44 (88,0%, 95% ДИ: 76,2-94,4) имело возраст ≤ 50 лет. Тестом Манна-Уитни показана исходная однородность сравниваемых групп по возрасту. Медиана возраста в I группе составила 48,0 лет, во II группе – 49,0 лет (U=237,5, z= -1,4, p=0,164).

По *социальному статусу* женщины распределялись следующим образом: служащими оказались 22 – 44,0% (95% ДИ 31,2-57,7) пациенток, работающими 18 – 36,0% (95% ДИ 24,1-49,9) и безработными 10 – 20,0% (95% ДИ 11,2-33,0) обследованных. Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона с поправкой на правдоподобие показали однородность социального статуса пациенток в изучаемых группах I и II ($\Lambda\chi^2_{(2)}=0,086$, p=0,958).

Показания для госпитализации пациенток обеих групп представлены в таблице 4.2.1.1. Основными показаниями для плановой госпитализации являлись: миома матки больших размеров 32 – 64,0% (95% ДИ 50,1-75,9), значимо более часто в I группе (p=0,020, согласно точному критерию Фишера) и рецидивирующая гиперплазия эндометрия 32 – 64,0% (95% ДИ 50,1-75,9), значимо более часто во II группе (p=0,001, согласно точному критерию Фишера).

Быстрый рост миомы диагностирован у 14 – 28,0% (95% ДИ 17,5-41,7), нарушение функции соседних органов у 4 – 8,0% (95% ДИ 3,2-18,8) женщин, одинаково часто в группах ($p=0,215$ и $p=0,121$, согласно точному критерию Фишера). Сочетанные показания для госпитализации установлены у 26 – 52,0% (95% ДИ 38,5-65,2) с одинаковой частотой в группах ($p=0,569$, согласно точному критерию Фишера).

Таблица 4.2.1.1. Показания для госпитализации, абс. n (95% ДИ)

Показатель	Группа I (n=28)	Группа II (n=22)
Миома матки больших размеров	22 (60,5-89,8%)	10 (26,9-65,3%)
Быстрый рост миомы матки	10 (20,7-54,2%)	4 (7,3-38,5%)
Нарушение функции соседних органов	4 (5,7-31,5%)	0 (0-14,9%)
Рецидивирующая гиперплазия эндометрия	12 (26,5-60,9%)	20 (72,2-97,5%)

При поступлении в стационар все ($n=50$) женщины – 100% (95% ДИ 92,9-100,0) предъявляли *жалобы*. В основном это были нарушения менструального цикла 46 – 92,0% (95% ДИ 81,2-96,9; $p=0,121$, согласно точному критерию Фишера), болевой синдром (включая ощущение тяжести и давления внизу живота) 19 – 38,0% (95% ДИ 25,9-51,9; $p=1,0$, согласно точному критерию Фишера), а также нарушение функции мочевого пузыря и прямой кишки 4 – 8,0% (95% ДИ 3,2-18,8; $p=0,121$, согласно точному критерию Фишера). Две и более жалобы имели 18 – 36,0% (95% ДИ 24,1-49,9; $p=1,0$, согласно точному критерию Фишера) пациенток.

Показатели *менструальной функции* представлены в таблице 4.2.1.2. Средний возраст менархе всех исследуемых ($n=50$) составил $13,1 \pm 0,1$ лет (минимум 11 и максимум 15 лет). Тест Манна-Уитни демонстрировал одинаковую медиану наступления менархе у пациенток I ($Me=13,0$ лет) и II групп ($Me=13,0$ лет; $U=274,0$, $z= -0,7$, $p=0,489$). Своевременное менархе (12-15 лет) одинаково часто встречалось в группах ($p=0,497$, согласно точному критерию

Фишера). Раннее менархе (до 12 лет) отмечено только у 2 – 4,0% (95% ДИ 1,1-13,5) женщин I группы.

Таблица 4.2.1.2. Показатели менструальной функции

Показатель	Группа I (n=28)	Группа II (n=22)
Возраст менархе, годы; M±m (Me; Q1-Q3)	13,2±0,2 (13,0; 13,0-14,0)	13,0±0,2 (13,0; 12,0-14,0)
Продолжительность менструального цикла, дни; M±m (Me; Q1-Q3)	27,3±0,4 (28,0; 25,5-29,0)	27,7±0,5 (28,0; 27,0-29,0)
Продолжительность менструации, дни; M±m (Me; Q1-Q3)	5,2±0,2 (5,0; 5,0-6,0)	5,1±0,3 (5,0; 4,0-7,0)
Нарушения менструального цикла; абс. n (95% ДИ):		
аномальные маточные кровотечения	24 (68,5-94,3%)	14 (43,0-80,3%)
межменструальные маточные кровотечения	8 (15,3-47,1%)	8 (19,7-57,0%)
олигоменорея	0 (0-12,1%)	2 (2,5-27,8%)

Средняя продолжительность менструального цикла и длительность менструального кровотечения всех исследуемых (n=50) составили 27,5±0,3 дня и 5,2±0,2 дня, соответственно. Тест Манна-Уитни показал одинаковую медиану изучаемых параметров у пациенток обеих групп (U=278,0, z= -0,6, p=0,550 и U=280,0, z= -0,6, p=0,575, соответственно).

До операции менструации были регулярными только у 4 – 8,0% (95% ДИ 3,2-18,8) пациенток, одинаково часто в группах (p=0,121, согласно точному критерию Фишера). Нарушение менструального цикла в виде АМК имели 38 – 76,0% (95% ДИ 62,6-85,7) пациенток (p=0,099, согласно точному критерию Фишера). Межменструальное маточное кровотечение встречалось у 16 – 32,0% (95% ДИ 20,8-45,8) женщин (p=0,761, согласно точному критерию Фишера). Олигоменорея выявлена только у 2 – 4,0% (95% ДИ 1,1-13,5) пациенток (p=0,189, согласно точному критерию Фишера). Сочетанное нарушение менструального цикла отмечалось у 10 – 20,0% (95% ДИ 11,2-33,0) женщин (p=0,154, согласно точному критерию Фишера).

Средний возраст начала половой жизни всех исследуемых (n=50) составил 18,2±0,2 лет (минимум 16 и максимум 20 лет). Критерий Манна-Уитни

демонстрировал одинаковую медиану возраста начала половой жизни у пациенток обеих групп ($U=240,0$, $z=-0,3$, $p=0,778$).

Анализ репродуктивной функции пациенток показал, что беременность в анамнезе имели все женщины ($n=50$) – 100% (95% ДИ 92,9-100,0). Показатели акушерского анамнеза пациенток представлены в таблице 4.2.1.3. Детородная функция была реализована у 48 – 96,0% (95% ДИ 86,5-98,9) женщин, одинаково часто в группах ($p=0,497$, согласно точному критерию Фишера). Различные варианты прерываний беременности установлены у 40 – 80,0% (95% ДИ 67,0-88,8) пациенток, одинаково часто в группах ($p=1,0$, согласно точному критерию Фишера). Артифициальные аборт в анамнезе выявлены у 30 – 60,0% (95% ДИ 46,2-72,4) женщин, из них два и более прерываний беременности имели место у 21 – 42,0% (95% ДИ 29,4-55,8) женщины. Спонтанные выкидыши встречались у 20 – 40,0% (95% ДИ 27,6-53,8) пациенток. Частота артифициальных абортов и самопроизвольных выкидышей значимо не различалась в исследуемых группах ($p=0,567$ и $p=0,085$, согласно точному критерию Фишера, соответственно).

Таблица 4.2.1.3. Показатели репродуктивной функции, абс. n (95% ДИ)

Показатель	Группа I (n=28)	Группа II (n=22)
Роды (включая кесарево сечение)	26 (77,4-98,0%)	22 (85,1-100,0%)
Артифициальные аборты	18 (45,8-79,3%)	12 (34,7-73,1%)
Спонтанные аборты	8 (15,3-47,1%)	12 (34,7-73,1%)
Общее число прерываний беременности	26 (77,4-98,0%)	22 (85,1-100,0%)

До планирования реализации репродуктивной функции эффективные *методы контрацепции* использовали 43 – 86,0% (95% ДИ 73,8-93,1) пациентки: комбинированные оральные контрацептивы – 6 – 12,0% (95% ДИ 5,6-23,8), барьерные методы – 31 – 62,0% (95% ДИ 48,2-74,1), внутриматочные средства – 24 – 48,0% (95% ДИ 34,8-61,5). 7 женщин – 14,0% (95% ДИ 7,0-26,2) сообщали об отсутствии использования какого-либо метода предупреждения беременности. Согласно таблице сопряженности, точному критерию Фишера установлена одинаковая частота использования контрацепции в изучаемых группах

($p=0,217$), в том числе комбинированных оральных контрацептивов ($p=0,211$) и внутриматочных средств ($p=0,166$). Пациентки I группы (22/28) значительно более часто использовали барьерные методы предотвращения беременности (9/22 во II группе; $p=0,009$, согласно точному критерию Фишера).

Отягощённый *аллергологический анамнез* имела каждая пятая 10 – 20,0% (95% ДИ 11,2-33,0) пациентка. Аллергические реакции на лекарственные средства в основном были связаны с приёмом антибактериальных препаратов β -лактамного ряда, непереносимостью местных анестетиков. Анализ таблиц сопряжённости, точный критерий Фишера демонстрировали одинаковую частоту аллергических реакций в изучаемых группах ($p=0,154$).

Средний *ИМТ* всех исследуемых ($n=50$) составил $32,2\pm 1,1$ (минимум 20,1, максимум 51,1). Нормальной массой тела (ИМТ 18,5-25,0) характеризовались только 6 – 12,0% (95% ДИ 5,6-23,8) женщин. Дефицита массы тела (ИМТ 16,0-18,5) не имела ни одна пациентка 0 – 0% (95% ДИ 0-7,1). имели 8 (2-8%) женщин, избыточную массу тела (ИМТ 25,0-30,0) 14 – 28,0% (95% ДИ 17,5-41,7) пациенток. Ожирение установлено у 30 – 60,0% (95% ДИ 46,2-72,4) женщин, включая первую степень 16 – 32,0% (95% ДИ 20,8-45,8), вторую 6 – 12,0% (95% ДИ 5,6-23,8), третью 8 – 16,0% (95% ДИ 8,3-28,5). *U-критерий Манна-Уитни* демонстрировал однородность групп по медианам ИМТ ($U=272,0$, $z=-0,7$, $p=0,481$). Анализ таблиц сопряжённости, точный критерий Фишера также показывали одинаковую частоту нормальной массы тела ($p=0,683$), избыточной ($p=1,0$) и ожирения ($p=0,773$) в изучаемых группах, включая первую ($p=0,761$), вторую ($p=0,683$) и третью ($p=0,718$) степень.

На момент вступления в исследование физическое здоровье пациенток было оценено как удовлетворительное. При наличии хронической соматической патологии отмечалась стойкая ремиссия или компенсированное состояние, показатели общеклинических анализов крови и мочи, гемостазиограммы были в пределах нормы. Анализ соматического статуса выявил высокую частоту экстрагенитальной патологии, структура которой представлена в таблице 4.2.1.4.

Таблица 4.2.1.4. Экстрагенитальная патология, абс. n (95% ДИ)

Заболевание (орган / система)	Группа I (n=28)	Группа II (n=22)
Ожирение	14 (32,6-67,4)	16 (51,9-86,9)
Желудочно-кишечный тракт	24 (68,5-94,3)	8 (19,7-57,0)
Мочевыделительная система	4 (5,7-31,5)	4 (7,3-38,5)
Сердечно-сосудистая система	18 (45,8-79,3)	14 (43,0-80,3)
Дыхательная система	2 (2,0-22,6)	4 (7,3-38,5)
Молочная железа	16 (39,1-73,5)	12 (34,7-73,1)
Другие	4 (5,7-31,5)	14 (43,0-80,3)
Всего	28 (87,9-100)	22 (85,1-100)

Соматическая патология имела место у каждой пациентки (n=50) – 100% (95% ДИ 92,9-100,0). Выявлена наиболее высокая частота заболеваний желудочно-кишечного тракта 32 – 64,0% (95% ДИ 50,1-75,9) и сердечно-сосудистой системы 32 – 64,0% (95% ДИ 50,1-75,9), а также молочных желёз 28 – 56,0% (95% ДИ 42,3-68,8) и ожирения 30 – 60,0% (95% ДИ 46,2-72,4). Установлена взаимосвязь между возрастом и наличием ожирения ($\Lambda\chi^2=29,9$; $p=0,001$), заболеваний дыхательной ($\Lambda\chi^2=19,0$; $p=0,040$), сердечно-сосудистой ($\Lambda\chi^2=20,7$; $p=0,023$) систем, молочной железы ($\Lambda\chi^2=18,7$; $p=0,044$), желудочно-кишечного тракта ($\Lambda\chi^2=25,6$; $p=0,004$). В то же время между возрастом и заболеваниями мочевыделительной системы взаимосвязи не установлено ($\Lambda\chi^2=17,7$; $p=0,060$). Анализ таблиц сопряжённости, точный критерий Фишера показали одинаковую частоту хронического пиелонефрита ($p=0,718$), хронического бронхита ($p=0,385$), артериальной гипертензии ($p=1,0$) и мастопатии ($p=1,0$) в изучаемых группах. Дополнительно установлена взаимосвязь между ожирением и сердечно-сосудистыми заболеваниями (точный критерий Фишера, $p=0,035$).

Оперативные вмешательства на органах брюшной полости в анамнезе имелись у 16 – 32,0% (95% ДИ 20,8-45,8) пациенток, согласно таблице сопряжённости и точному критерию Фишера одинаково часто в группах ($p=0,126$). Основными показаниями к оперативному лечению являлись острый аппендицит 14 – 28,0% (95% ДИ 17,5-41,7) и калькулёзный холецистит 2 – 4,0%

(95% ДИ 1,1-13,5). Двум пациенткам проведена флебэктомия – 4,0% (95% ДИ 1,1-13,5). Кесарево сечение по поводу узкого таза проведено также двум пациенткам – 4,0% (95% ДИ 1,1-13,5).

Гинекологические заболевания в исследуемых группах установлены у всех женщин (n=50) – 100% (95% ДИ 92,9-100,0). Структура генитальной патологии представлена в таблице 4.2.1.5. Обращало на себя внимание наличие миомы матки у всех женщин 50 – 100% (95% ДИ 92,9-100,0), что закономерно, так как являлось основным показанием для оперативного лечения в обеих группах. Чаще других заболеваний выявлена патология шейки матки 36 – 72,0% (95% ДИ 58,3-82,5), с одинаковой частотой в группах установлены хронические воспалительные заболевания придатков матки 20 – 40,0% (95% ДИ 27,6-53,8) и ретенционные образования яичников 20 – 40,0% (95% ДИ 27,6-53,8). Установлена взаимосвязь между возрастом и воспалительными заболеваниями ОМТ ($\Lambda\chi^2=24,9$; $p=0,005$). В то же время между возрастом и наличием эндометриоза ($\Lambda\chi^2=11,3$; $p=0,338$), патологией шейки матки ($\Lambda\chi^2=15,9$; $p=0,103$), кистами яичников ($\Lambda\chi^2=8,6$; $p=0,570$) взаимосвязи не установлено.

Таблица 4.2.1.5. Гинекологическая патология, абс. n (95% ДИ)

Заболевания	Группа I (n=28)	Группа II (n=22)
Хронический сальпингит	12 (26,5-60,9)	8 (19,7-57,0)
Функциональные кисты яичников	12 (26,5-60,9)	8 (19,7-57,0)
Гиперпластические процессы эндометрия	14 (32,6-67,4)	14 (43,0-80,3)
Миома матки	28 (87,9-100)	22 (85,1-100)
Эндометриоз ⁸	3 (3,7-27,2)	4 (7,3-38,5)
Патология шейки матки	20 (52,9-84,8)	16 (51,9-86,9)
Всего	28 (87,9-100)	22 (85,1-100)

Перед радикальным оперативным вмешательством на матке всем пациенткам проводилась биопсия эндометрия или отдельное диагностическое выскабливание полости матки под гистероскопическим контролем. По

⁸ Включены только малые формы эндометриоза брюшины таза (единичные очаги)

результатам гистологического исследования гиперпластические процессы эндометрия выявлены у 28 – 56,0% (95% ДИ 42,3-68,8) женщин. Анализ таблиц сопряженности, точный критерий Фишера показали одинаковую частоту хронического сальпингита ($p=0,773$), функциональных кист яичников ($p=0,773$), гиперплазии эндометрия ($p=0,398$), эндометриоза ($p=0,684$) и фоновых заболеваний шейки матки ($p=1,0$) в изучаемых группах.

Оперативный доступ основного хирургического вмешательства у всех женщин ($n=50$) ограничивался лапароскопией – 100% (95% ДИ 92,9-100,0). Дополнительным объемом оперативного вмешательства при ГЭ являлся адгезиолизис, обусловленный наличием спаечного процесса ОМТ, 11 – 22,0% (95% ДИ 12,8-35,2).

Таким образом, анализ основных клинико-анамнестических характеристик изучаемых групп с одной стороны позволил выявить особенности преморбидного фона пациенток с планируемым радикальным вмешательством на матке, с другой – установить гомогенность двух сравниваемых групп, что давало возможность должным образом интерпретировать последующие результаты.

4.2.2. Анализ показателей репродуктивного здоровья пациенток до и после радикальных операций на матке и маточных трубах

Наиболее важным и заключительным этапом исследования явилось изучение состояния репродуктивного здоровья пациенток до и после проведенного радикального оперативного вмешательства на матке и маточных трубах на основе параметров функционального ОР, менопаузального индекса Н. Куррерман (1959), модифицированного Е.В. Уваровой (1983).

Показатели ОР представлены в таблице 4.2.2.1. Учитывая относительно высокие значения гонадотропинов, низкие ингибина В и E_2 , уменьшенные $V_{я}$ и КАФ проведено изучение влияния основного заболевания (показания для ГЭ в дальнейшем) и возраста на основные показатели ОР до операции.

Таблица 4.2.2.1. Показатели овариального резерва, $M \pm m$ (Me; Q1-Q3)

Показатель	Группа I (n=28)		Группа II (n=22)	
	до операции	после операции	до операции	после операции
ФСГ, мЕд/мл	26,0±3,8 (18,3; 7,8-40,0)	35,7±4,4 (25,6; 15,0-47,7)	17,7±2,3 (17,4; 6,9-26,9)	25,3±1,8 (24,0; 19,2-31,1)
ЛГ, мЕд/мл	27,1±3,4 (17,8; 8,5-50,0)	32,7±3,5 (24,0; 16,2-53,4)	14,3±2,0 (13,0; 7,4-15,8)	21,5±1,7 (19,5; 15,8-25,6)
Ингибин В, пг/мл	40,3±3,8 (42,4; 27,5-49,2)	22,1±2,4 (22,9; 10,2-30,0)	33,0±5,1 (28,1; 9,5-52,5)	17,7±3,0 (18,0; 5,5-22,5)
Эстрадиол, пмоль/л	73,1±4,8 (80,0; 56,7-100,0)	70,5±6,4 (54,5; 45,3-85,0)	65,2±4,9 (61,6; 48,0-80,3)	64,2±6,1 (52,9; 42,9-77,5)
V _{я справа} , см ³	3,3±0,3 (3,6; 2,1-4,2)	1,9±0,3 (1,7; 1,0-2,5)	3,8±0,5 (3,1; 2,0-5,3)	1,6±0,2 (1,3; 1,0-2,0)
V _{я слева} , см ³	3,8±0,4 (3,1; 1,9-5,6)	1,9±0,3 (1,3; 1,0-3,0)	4,3±0,6 (4,0; 1,6-6,4)	1,7±0,2 (1,3; 1,0-2,4)
КАФ сумма	7,1±1,1 (6,0; 2-12,0)	2,7±0,7 (2,0; 0-6,0)	3,1±1,1 (0; 0-4,0)	1,6±0,6 (0; 0-3,0)

Примечание: V – объём, КАФ – количество антральных фолликулов.

Показано отсутствие влияния гиперплазии эндометрия на ФСГ ($\chi^2_{(16)}=24,1$, $p=0,087$), ЛГ ($\chi^2_{(16)}=22,8$, $p=0,119$), E_2 ($\chi^2_{(17)}=13,8$, $p=0,684$), ингибин В ($\chi^2_{(26)}=27,5$, $p=0,386$). В то же время при заболевании значимо менялось КАФ ($\chi^2_{(12)}=26,5$, $p=0,009$), однако учитывая нелинейный характер ($\chi^2_{\text{для тренда}}=1,1$, $p=0,298$) и незначимые результаты направленных симметричных и асимметричных мер (γ Гудмена-Краскела = 0,293, $p=0,132$; d Сомерса = 0,155, $p=0,132$), взаимосвязи не выявлено. Дополнительно установлены линейные ($\chi^2_{\text{для тренда}}=6,6$, $p=0,010$; $\chi^2_{\text{для тренда}}=4,4$, $p=0,036$) положительные (γ Гудмена-Краскела = 0,439, $p=0,007$; d Сомерса = 0,232, $p=0,007$ и γ Гудмена-Краскела = 0,352, $p=0,046$; d Сомерса = 0,184, $p=0,046$) взаимосвязи между гиперплазией эндометрия и V_{я справа} и слева, ($\Lambda\chi^2_{(14)}=44,9$, $p<0,001$ и $\Lambda\chi^2_{(17)}=47,0$, $p<0,001$), соответственно. Тем не менее положительный характер связи исключает негативное влияние заболевания на снижение показателей ОР.

Так как миома матки установлена у всех пациенток проведено изучение влияния заболевания на показатели ОР только клинически значимых случаев (миома матки, являющаяся показанием к ГЭ). Показано отсутствие влияния миомы матки на ЛГ ($\chi^2_{(16)}=26,1$, $p=0,053$), E_2 ($\chi^2_{(17)}=13,8$, $p=0,683$), ингибин В ($\chi^2_{(26)}=31,4$, $p=0,215$). В то же время при заболевании значимо изменялись ФСГ

($\chi^2_{(16)}=26,9$, $p=0,043$), КАФ ($\chi^2_{(12)}=23,2$, $p=0,026$), V_y справа ($\chi^2_{(14)}=27,9$, $p=0,015$) и V_y слева ($\chi^2_{(17)}=42,0$, $p=0,001$). Однако характер изменений оказывался нелинейным ($\chi^2_{\text{для тренда}}=0,1$, $p=0,766$; $\chi^2_{\text{для тренда}}=1,6$, $p=0,206$; $\chi^2_{\text{для тренда}}=0,3$, $p=0,596$; $\chi^2_{\text{для тренда}}=1,3$, $p=0,250$, соответственно), симметричные и асимметричные меры незначимыми (γ Гудмена-Краскела = $-0,092$, $p=0,606$; d Сомерса = $-0,041$, $p=0,606$; γ Гудмена-Краскела = $0,297$, $p=0,136$; d Сомерса = $0,144$, $p=0,136$; γ Гудмена-Краскела = $0,060$, $p=0,746$; d Сомерса = $0,030$, $p=0,746$; γ Гудмена-Краскела = $0,135$, $p=0,453$; d Сомерса = $0,068$, $p=0,453$).

Показаны значимые корреляции положительная между возрастом и ФСГ ($r_p=0,403$; $p=0,004$), отрицательные – возрастом и ингибином В ($r_p= -0,414$; $p=0,003$), КАФ ($r_p= -0,357$; $p=0,020$). Взаимосвязи между остальными параметрами ОР и возрастом не установлены: ЛГ ($r_p=0,246$; $p=0,084$), E_2 ($r_p= -0,224$; $p=0,118$), V_y слева ($r_p=0,175$; $p=0,267$), V_y справа ($r_p= -0,179$; $p=0,258$).

Для установления исходной однородности групп в первую очередь выполнено сравнение *гормонального профиля* до оперативного лечения, *post hoc* гомогенности и определения вклада СЭ в изменение функции яичников – после оперативного лечения.

До основного оперативного вмешательства U-критерием Манна-Уитни с критическим $p=0,050$ показаны одинаковые концентрации ФСГ в I (Me=18,3 мЕд/мл) и II группе (Me=17,4 мЕд/мл; $U=233,0$, $z= -1,5$, $p=0,142$), E_2 в I (Me=80,0 пмоль/л) и II группе (Me=61,6 пмоль/л; $U=245,0$, $z= -1,2$, $p=0,215$), ингибина В в I (Me=42,4 пг/мл) и II группе (Me=28,1 пг/мл; $U=253,0$, $z= -1,1$, $p=0,280$), V_y справа в I (Me=3,6 см³) и II группе (Me=3,1 см³; $U=204,0$, $z= -0,4$, $p=0,686$) и слева в I (Me=3,1 см³) и II группе (Me=4,0 см³; $U=294,0$, $z= -0,7$, $p=0,512$). При этом в I группе концентрация ЛГ (Me=17,8 мЕд/мл), КАФ (Me=6,0) оказывались значимо более высокими по сравнению с таковыми во II группе (Me=13,0 мЕд/мл, $U=195,5$, $z= -2,2$, $p=0,027$; Me=0, $U=110,0$, $z= -2,8$, $p=0,005$, соответственно).

После проведённого оперативного вмешательства все изучаемые параметры ОР оказывались сопоставимыми в группах: ФСГ в I (Me=25,6 мЕд/мл) и II группе (Me=24,0 мЕд/мл; $U=261,0$, $z= -0,9$, $p=0,362$), ЛГ в I (Me=24,0 мЕд/мл) и II группе

(Me=19,5 мЕд/мл; U=214,5, z= -1,8, p=0,067), E₂ в I (Me=54,5 пмоль/л) и II группе (Me=52,9 пмоль/л; U=282,5, z= -0,5, p=0,617), ингибин В в I (Me=22,9 пг/мл) и II группе (Me=18,0 пг/мл; U=236,5, z= -1,4, p=0,161), V_я справа в I (Me=1,7 см³) и II группе (Me=1,3 см³; U=102,0, z= -0,8, p=0,453) и слева в I (Me=1,3 см³) и II группе (Me=1,3 см³; U=108,0, z= -0,5, p=0,617), КАФ в I (Me=2,0) и II группе (Me=0, U=98,0, z= -1,6, p=0,148).

Следующим этапом работы явилось сравнение как собственно влияния оперативного лечения в целом (ГЭ) на функцию яичников, так и изолированное изучение разных объёмов хирургического вмешательства на ОР. Незначительной исходной неоднородностью в группах (сравнения критерием Манна-Уитни до оперативного лечения) по некоторым маркёрам (концентрация ЛГ, КАФ) пренебрегали, так как более высокая концентрация ЛГ с одной стороны предполагала снижение ОР, значения КАФ с другой – его сохранность в I группе.

Критерием Вилкоксона показано существенное повышение концентрации гонадотропинов, снижение других гормональных и ультразвуковых маркёров ОР после ГЭ: ФСГ до (Me=17,4 мЕд/мл) и после (Me=24,0 мЕд/мл, z= -6,0, p<0,001), ЛГ до (Me=15,4 мЕд/мл) и после (Me=20,2 мЕд/мл, z= -6,2, p<0,001), E₂ до (Me=68,6 пмоль/л) и после (Me=52,9 пмоль/л, z= -2,0, p=0,050), ингибин В до (Me=42,0 пг/мл) и после (Me=20,0 пг/мл, z= -6,1, p<0,001), V_я справа до (Me=3,6 см³) и после (Me=1,3 см³, z= -4,6, p<0,001), V_я слева до (Me=3,9 см³) и после (Me=1,3 см³, z= -4,5, p<0,001), КАФ до (Me=3,0) и после (Me=1,0, z= -2,7, p=0,006).

Аналогичные результаты сравнений (исключая E₂) показаны у пациенток только первой группы (ГЭ с маточными трубами): ФСГ до (Me=18,3 мЕд/мл) и после (Me=25,6 мЕд/мл, z= -4,6, p<0,001), ЛГ до (Me=17,8 мЕд/мл) и после (Me=24,0 мЕд/мл, z= -4,6, p<0,001), E₂ до (Me=80,0 пмоль/л) и после (Me=54,5 пмоль/л, z= -1,2, p=0,227), ингибин В до (Me=42,4 пг/мл) и после (Me=22,9 пг/мл, z= -4,6, p<0,001), V_я справа до (Me=3,6 см³) и после (Me=1,7 см³, z= -2,1,

$p=0,036$), V_y слева до ($Me=3,1 \text{ см}^3$) и после ($Me=1,3 \text{ см}^3$, $z=-2,1$, $p=0,036$), КАФ до ($Me=6,0$) и после ($Me=2,0$, $z=-2,2$, $p=0,027$).

Аналогичные результаты сравнений (исключая E_2 и КАФ слева) показаны у пациенток только второй группы (ГЭ без придатков): ФСГ до ($Me=17,4 \text{ мЕд/мл}$) и после ($Me=24,0 \text{ мЕд/мл}$, $z=-3,8$, $p<0,001$), ЛГ до ($Me=13,0 \text{ мЕд/мл}$) и после ($Me=19,5 \text{ мЕд/мл}$, $z=-4,1$, $p<0,001$), E_2 до ($Me=61,6 \text{ пмоль/л}$) и после ($Me=52,9 \text{ пмоль/л}$, $z=-1,7$, $p=0,082$), ингибин В до ($Me=28,1 \text{ пг/мл}$) и после ($Me=18,0 \text{ пг/мл}$, $z=-4,0$, $p<0,001$), V_y справа до ($Me=3,1 \text{ см}^3$) и после ($Me=1,3 \text{ см}^3$, $z=-3,9$, $p<0,001$), V_y слева до ($Me=4,0 \text{ см}^3$) и после ($Me=1,3 \text{ см}^3$, $z=-3,7$, $p<0,001$), КАФ до ($Me=0$) и после ($Me=0$, $z=-1,5$, $p=0,122$).

Дополнительно изучено влияние возраста на основные показатели ОР после ГЭ (вне зависимости от проведения СЭ). Корреляции между возрастом и ФСГ ($r_p=0,300$; $p=0,034$), ингибином В ($r_p=-0,362$; $p=0,010$) сохраняются, КАФ ($r_p=-0,081$; $p=0,649$) – нет.

Таким образом, удаление матки значительно снижает функцию яичников (повышение гонадотропинов, снижение E_2 и ингибина В, уменьшение объёма яичников). Удаление маточных труб практически не влияет на показатели ОР (дополнительно снижается только КАФ). Возрастное снижение функции яичников частично нивелируется оперативным лечением.

Далее проведено сравнение степени тяжести климактерического синдрома по ММИ Куппермана-Уваровой (1983) до и после проведённого оперативного вмешательства (таблица 4.2.2.2). Анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона демонстрировали значимо более высокую частоту климактерического синдрома (точный критерий Фишера) и различных степеней его тяжести в I группе ($\Lambda\chi^2_{(3)}=11,3$, $p=0,004$).

Учитывая порядковые шкалы измерений сравнение степени тяжести климактерического синдрома до и после оперативного лечения без деления на подгруппы I и II (собственно влияние ГЭ) проводилось критерием Вилкоксона с критическим $p=0,050$. Тест демонстрировал значимое изменение степени тяжести климактерических проявлений ($z=-2,5$, $p=0,012$), так же, как и критерий

знаков ($p=0,001$). Для выявления какая именно степень тяжести изменяется, использован тест Мак-Нимара. Критерием на основе биномиального распределения показано значимое увеличение частоты климактерического синдрома: у 26 женщин (52%, 95% ДИ: 38,5-65,2%) до операции vs 36 пациенток (68%, 95% ДИ: 54,2-79,2%) после операции ($p=0,039$). При этом доли лёгкой, средней и тяжёлой степени до и после операции оставались одинаковыми ($p=0,648$, $p=1,0$, $p=0,500$, соответственно).

Таблица 4.2.2.2. Степень тяжести климактерического синдрома по ММИ Куппермана-Уваровой (1983), абс. n (95% ДИ)

Показатель		Степень тяжести	Группа I (n=28)	Группа II (n=22)
ММИ	до операции	нет	18 (45,8-79,3)	6 (13,2-48,2)
		лёгкая	10 (20,7-54,2)	12 (34,7-73,1)
		средняя	0 (0-12,1)	4 (7,3-38,5)
		тяжёлая	0 (0-12,1)	0 (0-14,9)
	после операции	нет	12 (26,5-60,9)	4 (7,3-38,5)
		лёгкая	14 (32,6-67,4)	11 (30,7-69,3)
		средняя	2 (2,0-22,6)	5 (10,1-43,4)
		тяжёлая	0 (0-12,1)	2 (2,5-27,8)

Аналогичный результат показан для I группы: тестом Вилкоксона ($z= -2,8$, $p=0,005$), знаков ($p=0,008$). Критерий Мак-Нимара также демонстрировал значимое увеличение частоты климактерического синдрома: у 10 женщин (36%, 95% ДИ: 20,7-54,2%) до операции vs 16 пациенток (57%, 95% ДИ: 39,1-73,5%) после операции ($p=0,031$). Частота лёгкой и средней степени тяжести до и после операции оставалась одинаковой ($p=0,289$ и $p=0,500$, соответственно), а тяжёлый климактерический синдром не встречался вообще.

Для II группы до и после операции установлено отсутствие изменения степени тяжести климактерического синдрома: критерием Вилкоксона ($z= -1,3$, $p=0,202$) и тестом знаков ($p=0,092$), в связи с чем критерий Мак-Нимара не использовался.

С целью выявления, какие группы симптомов подвергаются изменению, отдельно проанализирована динамика нейровегетативных, обменно-эндокринных и психоэмоциональных проявлений климактерического синдрома (таблицы 4.2.2.3 и 4.2.2.4).

Таблица 4.2.2.3. Абсолютная сумма баллов климактерических симптомов по ММИ Куппермана-Уваровой (1983)

Группа нарушений		Группа I (n=28)	Группа II (n=22)
нейровегетативные	до операции	196	310
	после операции	266	398
обменно-эндокринные	до операции	68	82
	после операции	82	104
психоэмоциональные	до операции	64	86
	после операции	82	156

До оперативного вмешательства (n=50) среди нейровегетативных симптомов наиболее часто женщины предъявляли жалобы на головные боли 28 – 56,0% (95% ДИ: 42,3-68,8; точный критерий Фишера, p=0,047), повышение артериального давления 16 – 32,0% (95% ДИ: 19,1-44,9; точный критерий Фишера, p=0,126), онемение и парестезии 20 – 40,0% (95% ДИ: 26,4-53,6; точный критерий Фишера, p<0,001), сухость кожи 24 – 48,0% (95% ДИ: 34,2-61,9; точный критерий Фишера, p=0,086), отёчность лица и век 18 – 36,0% (95% ДИ: 22,7-49,3; точный критерий Фишера, p=0,020), нарушение сна 20 – 40,0% (95% ДИ: 26,4-53,6; точный критерий Фишера, p=0,567); обменно-эндокринных – ожирение 28 – 56,0% (95% ДИ: 42,3-68,8; точный критерий Фишера, p=0,398), гиперплазию молочных желёз 30 – 60,0% (95% ДИ: 46,4-73,6; точный критерий Фишера, p=0,567), мышечно-суставные боли 22 – 44,0% (95% ДИ: 30,2-57,8; точный критерий Фишера, p=0,398); психоэмоциональных – утомляемость 20 – 40,0% (95% ДИ: 26,4-53,6; точный критерий Фишера, p=0,773), снижение памяти 22 – 44,0% (95% ДИ: 30,2-57,8; точный Фишера, p=1,0), раздражительность 20 – 40,0% (95% ДИ: 26,4-53,6; точный критерий Фишера, p=0,085), изменение либидо 16 – 32,0% (95% ДИ: 19,1-44,9; точный Фишера, p<0,001).

Таблица 4.2.2.4. Степень тяжести климактерического синдрома по шкалам нейровегетативных, эндокринно-метаболических и психоэмоциональных нарушений, абс. n (95% ДИ)

Показатель		Степень тяжести	Группа I (n=28)	Группа II (n=22)
нейро- вегетативные	до операции	нет	24 (68,5-94,3)	8 (19,7-57,0)
		лёгкая	4 (5,7-31,5)	10 (26,9-65,3)
		средняя	0 (0-12,1)	4 (7,3-38,5)
		тяжёлая	0 (0-12,1)	0 (0-14,9)
	после операции	нет	20 (52,9-84,8)	4 (7,3-38,5)
		лёгкая	6 (10,2-39,5)	8 (19,7-57,0)
		средняя	2 (2,0-22,6)	7 (16,4-52,7)
		тяжёлая	0 (0-12,1)	3 (4,8-33,3)
обменно- эндокринные	до операции	нет	0 (0-12,1)	2 (2,5-27,8)
		лёгкая	26 (77,4-98,0)	20 (72,2-97,5)
		средняя	2 (2,0-22,6)	0 (0-14,9)
		тяжёлая	0 (0-12,1)	0 (0-14,9)
	после операции	нет	0 (26,5-60,9)	0 (0-14,9)
		лёгкая	24 (68,5-94,3)	20 (72,2-97,5)
		средняя	4 (5,7-31,5)	2 (2,5-27,8)
		тяжёлая	0 (0-12,1)	0 (0-14,9)
психо- эмоциональные	до операции	нет	4 (5,7-31,5)	2 (2,5-27,8)
		лёгкая	22 (60,5-89,8)	18 (61,5-92,7)
		средняя	2 (2,0-22,6)	2 (2,5-27,8)
		тяжёлая	0 (0-12,1)	0 (0-14,9)
	после операции	нет	2 (2,0-22,6)	0 (0-14,9)
		лёгкая	24 (68,5-94,3)	16 (51,9-86,9)
		средняя	2 (2,0-22,6)	0 (0-14,9)
		тяжёлая	0 (0-12,1)	6 (13,2-48,2)

Критерий Вилкоксона показал значимое влияние ГЭ до и после операции (без деления на подгруппы) на степень тяжести каждой группы симптомов: нейровегетативных ($z = -2,8$, $p = 0,006$), обменно-эндокринных ($z = -2,4$, $p = 0,014$), психоэмоциональных ($z = -2,5$, $p = 0,014$). Критерий знаков демонстрировал только изменение степени тяжести нейровегетативных ($p < 0,001$), обменно-эндокринных ($p = 0,031$) и отсутствие динамики, психоэмоциональных ($p = 0,077$) проявлений. Тест Мак-Нимара установил, что значимо снижается только частота отсутствия нейровегетативных ($p = 0,039$) и увеличивается тяжёлая степень психоэмоциональных ($p = 0,031$) проявлений климактерического синдрома. Лёгкая ($p = 1,0$), средняя ($p = 0,180$) и тяжёлая ($p = 0,250$) степень нейровегетативных, отсутствие ($p = 0,500$), лёгкая ($p = 0,687$), средняя ($p = 0,125$)

степень обменно-эндокринных и отсутствие ($p=0,125$), лёгкая ($p=1,0$), средняя ($p=0,687$) степень психоэмоциональных симптомов значимо не изменяются.

Изолировано для I группы тест Вилкоксона и знаковый тест показали значимое изменение только нейровегетативных ($z= -2,4$, $p=0,014$ и $p=0,031$), отсутствие динамики обменно-эндокринных ($z= -1,4$, $p=0,157$ и $p=0,500$) и психоэмоциональных ($z= -0,8$, $p=0,414$ и $p=0,687$) проявлений. Для II группы Критерий Вилкоксона показал значимое изменение степени тяжести каждой группы симптомов: нейровегетативных ($z= -2,0$, $p=0,049$), обменно-эндокринных ($z= -2,0$, $p=0,046$), психоэмоциональных ($z= -2,4$, $p=0,018$). Критерий знаков демонстрировал только изменение степени тяжести нейровегетативных ($p=0,013$) и отсутствие динамики обменно-эндокринных ($p=0,125$), психоэмоциональных ($p=0,109$) проявлений.

После операции анализ таблиц сопряжённости, χ^2 Пирсона с поправкой на правдоподобие показали линейную ($\chi^2_{\text{(для тренда)}}=15,4$, $p<0,001$), положительную (γ Гудмена-Краскела = $0,797$, $p<0,001$; τ -с Кендалла = $0,605$, $p<0,001$; d Сомерса = $0,462$, $p<0,001$) взаимосвязь между СЭ и степенью тяжести нейровегетативных симптомов ($\Lambda\chi^2_{(3)}=18,3$, $p<0,001$). Аналогичный результат установлен для психоэмоциональных проявлений ($\chi^2_{\text{(для тренда)}}=7,2$, $p=0,007$; $\Lambda\chi^2_{(3)}=14,8$, $p=0,002$; γ Гудмена-Краскела = $0,724$, $p=0,012$; τ -с Кендалла = $0,269$, $p=0,012$; d Сомерса = $0,393$, $p=0,012$). Степень тяжести обменно-эндокринных нарушений оказывалась одинаковой в группах ($\Lambda\chi^2_{(1)}=0,3$, $p=0,570$).

Таким образом, удаление матки изменяет степень выраженности климактерического синдрома. Значимо увеличивается его частота от 52% до 68% и степень проявлений: лёгкая (от 44% до 50%), средняя (от 8% до 14%), тяжёлая (от 0% до 4%). Также отмечено увеличение частоты нейровегетативных (от 36% до 52%), обменно-эндокринных (от 92% до 100%) и психоэмоциональных симптомов (от 88% до 96%). Учитывая исходную неоднородность групп (по доле нейровегетативных и психоэмоциональных проявлений), вклад оппортунистической СЭ в увеличение частоты климактерических симптомов следует рассматривать только как тенденцию.

Г Л А В А 5

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Возраст женщины является важным фактором воспроизводства, а менархе и менопауза – альфой и омегой репродуктивного потенциала [282]. Яичники являются мишенью, на которые возраст оказывает большее влияние [48]. Биологическую основу снижения фертильности с возрастом составляют несколько событий: невосполнение герминогенных клеток в течении жизни, истощение фолликулярного пула, снижение качества овоцитов от рождения до менопаузы [180, 413, 423]. Отдельное значение придаётся эндокринным, паракринным, генетическим факторам и обменным процессам в яичниках, однако причины уменьшения пула фолликулов и полноценности овоцитов до конца не изучены [413]. Снижение качества и количества женских половых клеток – факторы, которые в настоящее время невозможно контролировать или изменить [125].

Современные популяционные исследования свидетельствуют о прогрессивном снижении естественной фертильности после 40 лет [459]. Несмотря на хороший шанс рождения здорового ребёнка в 35-летнем возрасте, риск бесплодия оказывается увеличенным более чем в 3 раза [459]. Кроме того, в позднем репродуктивном возрасте риск анеуплоидии составляет 40-80%, а значит возрастает риск прерывания беременности [437]. Качество овоцитов достигает критического минимума уже в 30 лет [88], поэтому успешность ЭКО в лечении бесплодия начинает снижаться с указанного возраста, пиковое уменьшение приходится на 37 лет [62].

Современная репродуктология имеет достаточный объём научных знаний в молекулярно-клеточной биологии процессов, обеспечивающих фолликулогенез [215, 266, 335, 367, 490], однако механизмы, контролирующие его, окончательно не установлены [185]. Только не рекрутированные ПФ составляют истинный тотальный ОР [209]. Именно он является действительным показателем продолжительности репродуктивного периода жизни, определяет кумулятивный

гипотетический шанс беременности у женщины [209]. Так как качество и количество женских половых клеток в гонадотропин-зависимый период уже предопределено [232], наиболее перспективным с точки зрения управления репродуктивным здоровьем является изучение факторов, ответственных за рекрутирование ПФ, а также молекулярного взаимодействия между овоцитом и соматическими клетками окружения на ранних стадиях роста фолликулов.

Морфологическая оценка тотального ОР в клинической практике недопустима в силу крайней агрессивности и малой информативности [271]. Ограничение применения инвазивных методов диагностики и лечения демонстрирует концепцию невосполнимости ОР. Поэтому перспективным выглядит изучение репродуктивного потенциала в возрастном аспекте и при различных гинекологических заболеваниях на экспериментальных моделях [86].

Клиническую значимость полноценного репродуктивного здоровья невозможно переоценить [361]. К установленным факторам снижения фертильности и формирования ПОН помимо возраста относятся генетические и метаболические расстройства, инфекционные и аутоиммунные заболевания, воздействия окружающей среды [259]. Особое значение уделяется ятрогенным факторам, частота которых достигает 1/3 всех случаев ОН [178].

Неуклонный рост гинекологических заболеваний неизбежно сопровождается увеличением хирургических вмешательств [14]. Долгосрочные последствия оперативного лечения часто не учитываются [10]. В отношении большинства вмешательств на гонадах доказанным считается повреждение фолликулярного аппарата и закономерное угнетение функции яичников [417]. При использовании эндоскопической техники дополнительное нарушение овариального гомеостаза происходит за счёт электрической энергии, применяемой с гемостатической целью [435]. Большой интерес вызывают последствия операций, не сопровождающихся непосредственным воздействием на гонады (ГЭ и СЭ) [78, 391], при которых не исключено непреднамеренное нарушение овариального кровоснабжения и стероидсинтетической функции гонад [60, 147].

На основании вышеизложенного следует, что несомненную пользу в разработке проблемы последствий хирургического лечения в гинекологии для репродуктивного здоровья могут внести результаты экспериментально-клинического исследования состояния яичников после оперативных вмешательств на ОМТ, в том числе без прямого воздействия на гонады, что и является предметом данного исследования.

Анализ результатов аутопсии и морфологического состояния яичников. Экспериментальная часть проведена на 148 крысах аутбредного стока Wistar. Восемь серий опытов включают основную группу (n=118), группу сравнения (n=18) и ложно-оперированный контроль (n=12). В основной группе операции осуществлены на гонадах (биполярная коагуляция коркового вещества), яйцеводах (биполярная коагуляция), маточных рогах (коагуляция или лигирование с последующим иссечением), и учитывают комбинированный объём вмешательства (маточные рога + яйцеводы). В соответствии с задачами исследованы 4 гипотетических блока: безусловное формирование ОН (электротравма яичников), возможное формирование ОН (удаление матки и яйцеводов), изолированный вклад каждого объёма хирургического воздействия, а также сравнение эффектов ЭХ и механической энергии в морфофункциональное состояние яичников. В группе сравнения исследованы эффекты ДГЭА на функцию гонад после удаления маточных рогов и яйцеводов.

Для приближения эксперимента к клинике использованы две взаимодополняющие модели. Во-первых, опыт проведён в позднем репродуктивном возрасте (модель физиологического репродуктивного старения) [86], эндокринным эквивалентом которого служит возраст животных равный 9-10-и месяцам [183]. Во-вторых, разработана авторская модификация модели ЭХ коагуляции яичников, предложенной И.Ю. Бухариной (2003) [3], заключающаяся в замене монополярного режима коагуляции на биполярный и увеличении точек приложения (коагуляция яйцеводов / маточных рогов).

Морфофункциональное исследование яичников после изолированных и комбинированных операций на матке и её придатках осуществляется в

различные сроки опыта с применением комплекса гистологических, гистохимических, электронно-микроскопических методов, макроскопической оценки, иммуноферментного и морфоколичественного анализа.

Состояние органов брюшной полости при аутопсии и последующее морфологическое исследование свидетельствуют о выраженных гемодинамических нарушениях, формировании воспалительной реакции и фокальных повреждениях коры яичников в различных сериях опыта в начальной стадии эксперимента. Вместе с тем, степень выраженности проявлений варьирует в зависимости от объёма вмешательства. Изменения обнаруживаются, начиная со 2-х суток эксперимента. В брюшной полости встречается серозный и серозно-геморрагический экссудат. При коагуляции яичников обнаруживаются кровоизлияния, утолщение и отёчность маточных рогов, полнокровие их сосудов и сосудов брюшины, гиперемия яйцеводов, а также обширные некротические изменения, превышающие непосредственную зону воздействия в 2-3 раза и распространяющиеся на ранее интактные ткани яичников. При гистологическом исследовании очаги некроза заполнены оксифильными гомогенными или мелкозернистыми массами, в которых клеточные элементы отсутствуют. Кровеносные сосуды коркового вещества, контактирующие с зоной некроза деструктивно изменены: эндотелий десквамирован, ядра клеток средней и наружной оболочек не выявляются, сосудистая стенка выглядит однородно оксифильной. Электронно-микроскопическое исследование демонстрирует отдельные мелкие бесформенные фрагменты клеток (органеллы и остатки ядер) без чёткой гистологической принадлежности.

У животных, которым не произведено непосредственного воздействия на яичники (ЭХ коагуляция яйцеводов +/-маточных рогов) также отмечено появление участков венозного стаза в сосудах брыжейки рогов матки, гиперемия и отечность гонад, кровоизлияния, фокусов деструкции коры яичников. При изолированном удалении матки очагово-некротические изменения практически не выявлялись. То есть даже прецизионное вмешательство на яйцеводах сопровождается формированием некротических изменений в яичниках в

непосредственной близости участка коагуляции. В отличие от серии опытов с удалением яйцеводов, в интактных гонадах при удалении маточных рогов сосудистые изменения преимущественно обнаруживаются в мозговом веществе. К наиболее частым гемодинамическим нарушениям в сосудах микроциркуляторного русла относятся стаз, сладж и тромбоз. Цитоплазма эндотелиоцитов содержит расширенные цистерны эндоплазматической сети, набухшие митохондрии с деструкцией крист и просветлённым матриксом, умеренное количество микровезикул, единичные гранулы гликогена. Ядра характеризуются прикраевой конденсацией хроматина, инвагинациями ядерной оболочки в нуклеоплазму. Нарушение эндоскелета также обнаруживается в перицитах и гладких миоцитах. Базальная мембрана разрыхлена, отёчна, деструктивно изменена.

Вероятно, гемодинамические изменения являются универсальной реакцией ОМТ на действие повреждающего фактора. В литературе описаны аналогичные проявления в придатках матки при культуральном воспалении [17], электрохирургии яичников [3], после химиотерапии [112]. В связи с чем становится очевидным, что не только прямое воздействие на гонады оказывает потенциально неблагоприятное влияние на дальнейшую их функцию.

Возможным механизмом альтерации гонад является распространение действия повреждающего фактора (электрической энергии) за пределы видимой зоны воздействия [3]. Настоящее исследование показывает, что данные изменения могут быть ведущими при радикальных операциях на маточных трубах. ЭХ повреждение органов брюшной полости относится к наиболее опасным осложнениям эндоскопической хирургии, так как может быть нераспознано интраоперационно, а перфорация полых органов наступить отсрочено, как правило, в течение 2-х суток [274].

Другим механизмом, объясняющим повреждение генеративного аппарата яичников может быть его гипоперфузия, косвенным подтверждением которого является частое обнаружение гемодинамических нарушений в сосудах мозгового вещества. Изменения более характерны для радикальных операций на матке.

Следовательно, даже соблюдение принципа функциональной хирургии при радикальных операциях на матке и маточных трубах, а именно проведение манипуляций с указанными органами на расстоянии от гонад не может гарантировать сохранность их функции. В целом результаты исследования согласуются с литературными данными [7, 94].

При оперативном вмешательстве возможно не только локальное изменение овариального гомеостаза, действие самой операции может приводить к системным изменениям. Реакция на хирургический стресс является преходящей, проявляется гиперкоагуляцией и активацией воспалительного ответа [47]. Степень гемодинамических нарушений и их длительность зависят от множества факторов [47]. Закономерно более выраженные и продолжительные изменения отмечаются при большей травме [29]. Настоящая работа уже на макроскопическом уровне демонстрирует, что степень выраженности нарушений гомеостаза определяется типом оперативного вмешательства и не зависит от выбора метода гемостаза.

Системный воспалительный ответ не является строго специфичным, возникает в ответ на травмы, инфекции, стресс, неоплазии и воспаление [114]. К наиболее изученным маркерам воспалительной реакции относятся кортизол, интерлейкин-6, количество лейкоцитов и С-реактивный белок [485]. J. Ulrych et al. (2016) показано, что проявления системного ответа могут сохраняться до 28 дней после операции [29]. Данное обстоятельство является важным в оценке эффектов конкретного оперативного вмешательства. Глюкокортикоиды угнетают репродуктивную систему [384], а длительный хронический стресс смещает расходы предшественников стероидных гормонов для их синтеза, итогом является снижение продукции половых гормонов гонадами и преходящее повышение гонадотропинов [378]. При операциях с удалением яичников в репродуктивном возрасте гипергонадотропное состояние формируется в течение различного временного периода, на установление стабильно высоких значений ФСГ и ЛГ, как правило, уходит более одного месяца [24]. Так как операции на ОМТ могут транзиторно повышать концентрацию гонадотропинов [111, 285,

339, 461], исследование маркёров овариального старения для оценки эндокринного статуса после ГЭ рекомендуется проводить не ранее чем через 3 месяца после операции [168]. Учитывая продолжительность нормального менструального цикла у лабораторных животных и человека [294], длительность наблюдения в настоящем исследовании сопоставима с таковой у женщин в течение 6-12 месяцев после вмешательства, позволяет исключить длительное влияние оперативного стресса. Дополнительно этим целям служит ложно-оперированный контроль.

У крыс с ЭХ удалением маточных рогов (+/- яйцеводов) признаки спаечного процесса, в отличие от животных других групп, обнаруживаются всегда. В брюшной полости накапливается жидкость, визуализируются пласты фибрина. Часто маточные придатки спаяны с сальником и брюшной стенкой.

Формирование перитонеальной адгезии является наиболее распространенным осложнением брюшной и тазовой хирургии [91]. Биологическая роль фибрина состоит в обеспечении первичного восстановления целостности тканей, на которых фиксируются мезотелиоциты, а также в ограничении очага инфекции при наличии таковой [473].

Результаты аутопсии настоящего исследования наглядно демонстрируют, что наибольшее повреждение отмечается при комбинированном объёме вмешательства, когда формируется обширная раневая поверхность вследствие одномоментного удаления маточных рогов и яйцеводов. Некротические и некробиотические изменения в гонадах вблизи участка коагуляции вызывают не только обширные дефекты коркового вещества яичников, но и вызывают перифокальное асептическое воспаление. Отёчность и повышенное кровенаполнение тазовых органов являются следствием увеличения проницаемости сосудов, клинически проявляющейся наличием экссудата и отложением фибрина. С увеличением сроков эксперимента спаечный процесс носит умеренно выраженный, но распространённый характер. На 30-60-е сутки опыта определяются множественные тонкие, бессосудистые, прозрачные и полупрозрачные спайки, удаляемые с небольшим напряжением мезосальпинкса

или мезоовария. После коагуляции яйцеводов сохраняется незначительная гиперемия и отёк маточных рогов, нередко отмечается наличие гидрометры. В белочной оболочке наблюдается пролиферация клеточных элементов.

К неблагоприятным факторам перитонеального воспаления и формирования спаек относится не только собственно хирургическая травма, но и наличие кровотечения, ишемические повреждения при использовании механической энергии, термические и дегидратирующие эффекты электрохирургии [289]. Мультифакториальная природа повреждений тазовых органов, вероятно, является основной причиной отсутствия различий в морфофункциональном состоянии гонад при использовании различных хирургических энергий в эксперименте (механической и электрической).

Согласно данным М.А. Haidar M.A. et al. (1994) основными морфологическими и ультраструктурными проявлениями ОН являются отсутствующие РФ, атипичные ПФ, плотная соединительная ткань, представленная фибробластами [359]. O. Erbas et al. (2014) считают, что при ОН на начальных этапах отмечается дегенерация фолликулов и стромы, снижение количества ПФ и ПРФ, а содержание фолликулов более поздних этапов развития соответствует контролю [334]. В целом анализ литературы свидетельствует, что гонады женщин при ОН характеризуются двумя категориями морфофункционального состояния гонад, при которых фолликулы: 1) отсутствуют; или 2) определяются и не растут, либо определяются признаки развития (разные стадии роста и ЖТ) [403]. Разнородная гистологическая картина гонад, вероятно, свидетельствует о разных этапах формирования ОН.

Настоящее исследование показывает, что на 2-10-е сутки эксперимента отмечается значимое нарушение генеративного и эндокринного аппарата яичников. В корковом веществе изменяются не только архитектура фолликулярных гистионов, но и собственно компоненты овоцитов и соматических клеток окружения. Кора гонад содержит мало межклеточного вещества, строма компактна. Малочисленные нормальные РФ располагаются в более глубоких зонах коркового вещества, при вступлении в рост

характеризуются увеличением объема гранулёзы. Фолликулярный аппарат представлен фолликулами всех стадий развития, однако во все сроки эксперимента вне зависимости от объема оперативного вмешательства преобладают вторичные формы.

Основным патогенетическим фактором, поддерживающим дистрофические и дегенеративные процессы в гонадах, является нарушение местной гемодинамики. Ограничение кровоснабжения закономерно приводит к развитию ишемии и тканевой гипоксии [370]. Несомненный вклад дополнительно вносят продукты аутолиза некротизированных тканей [3].

Результаты настоящего исследования показывают, что морфогенетические преобразования фолликулярного аппарата яичников всегда сопровождаются высокодинамичными изменениями системы гемообеспечения. Высокий градиент распределения кровеносных сосудов с преимущественной локализацией в глубоких слоях коркового и мозговом веществе яичников предопределяет необходимость смещения фолликулов из поверхностной зоны в глубокие слои коркового вещества. Известно, что активное развитие фолликулов требует хорошей васкуляризации, поэтому густая сосудистая сеть наблюдается вокруг крупных фолликулов [19]. Дальнейшие морфометрические исследования показывают, что оперативное лечение сопровождается активацией всех форм РФ. Одним из морфологических признаков инициации ПФ в настоящем исследовании является обнаружение их контакта с гемокапиллярами.

Собственные данные демонстрируют, что динамичность сосудистого русла сохраняется и при дегенеративных изменениях фолликулов, однако показатели их васкуляризации оказываются переменными, что, вероятно, обусловлено как исключением одного из источников кровоснабжения гонад (вид операции), так и собственно повреждением участков коры яичников электрическим током. По аналогии с серией эксперимента, где гонады подвергаются непосредственной коагуляции, гемодинамические нарушения при одномоментном удалении маточных рогов и яйцеводов проявляются резким расширением и полнокровием сосудов венозного типа и капилляров в корковом веществе. В локусах яичников

с максимально выраженной деструкцией фолликулярного аппарата указанные изменения установлены и в сосудах мозгового вещества. Кровоизлияния также отмечаются в мозговом и корковом веществе. Гемокапилляры характеризуются явлениями престаза и стаза форменных элементов, краевым стоянием лейкоцитов, миграцией их через сосудистую стенку в строму и лейкоцитарной инфильтрацией периваскулярной соединительной ткани. Согласно обзору Ю.Д. Обуховой (2010) ведущим фактором старения яичников являются именно гемодинамические изменения, типичным морфологическим признаком которых являются гиалиноз артерий и компенсаторное расширение вен [19].

В настоящем эксперименте значительная часть фолликулов, не достигая стадии зрелости, претерпевает своеобразную перестройку деструктивного характера. Дегенеративные изменения фолликулярных эпителиоцитов проявляются деформацией ядер, уменьшением размеров, отёком цитоплазмы, вплоть до полной эксфолиации гранулёзного слоя. Базальная мембрана гиалинизирована и утолщена. Клетки теки оказываются морфологически неизменёнными. Отмечено снижение количества преантральных фолликулов в сравнении с более зрелыми. Возможно, это связано с тем, что малые фолликулы быстрее подвергаются атрезии, и к моменту наблюдения уже сформировали атретические тела. Изменения, обнаруживаемые в небольших преантральных фолликулах, вероятно, обуславливают определённый биологический смысл, заключающийся в поддержании поздних этапов фолликулогенеза за счёт резервного материала для дифференцировки наружного слоя теки в эндокриноциты [19]. Представленные нарушения структуры овсоматических гистионов отмечаются в большей степени при удалении яйцеводов (\pm маточных рогов). Частое расположение дегенеративных фолликулов группами вне зависимости от их размера косвенно свидетельствует о действии одних и тех же механизмов повреждения в отдельных регионах яичника, а близкая связь с локусами сосудистых изменений – об исключительной взаимосвязи с гемодинамическими нарушениями.

Собственные результаты показывают, что повреждение более зрелых фолликулов сопровождается изменением их конфигурации, гипертрофией гранулёзы и внутреннего слоя теки. Дегенеративные изменения овоцитов начинаются со сморщивания ядра, появления отёка и гомогенизации цитоплазмы, снижения её эозинофилии. *Zona pellucida* становится складчатой, утолщается и гиалинизируется, что нередко заканчивается полным разрушением половой клетки. В соматическом компоненте фолликулов нарушения проявляются дисконфлексацией фолликулярного эпителия, кариорексисом, изменением формы гранулёзных клеток, и слущиванием их в фолликулярную полость. В литературе описаны различные варианты дегенерации РФ [19], однако точные механизмы окончательно не установлены [185]. Вероятно, что на более ранних этапах фолликулярного роста нарушение кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла приводит к первичной регистрации изменений в соматическом компоненте фолликула, а овоцит в силу малой зависимости от гормональных стимулов сохраняется более длительно. Напротив, поздние стадии роста фолликулов характеризуются большей взаимосвязью овоцит-эпителиоцит гранулёзы, а высокая чувствительность к гормональным изменениям способствует первичному повреждению половой клетки [99, 245].

Одним из признаков атретического процесса в антральных фолликулах, установленном в настоящем эксперименте, является снятие блока мейоза овоцита и его деление, в подтверждение цитокинеза – обнаружение редуцированного тельца. Изменения, как правило, установлены в серии опытов по удалению маточных рогов. Псевдодробление овоцитов является проявлением нарушения циклической и пиковой овуляторной секреции гонадотропинов, наряду с преждевременной лютеинизацией фолликулов свидетельствует об очевидном раннем разобщении овосоматических контактов, внутрифолликулярной реинициации мейоза и указывает на хроническую ановуляцию [6].

В условиях активного фолликулярного роста и нарушения системы гомеобеспечения, установленных в ранние сроки действительного опыта, неизбежным является неполноценность фолликулярного развития. Морфогенетические преобразования в генеративном и эндокринном аппарате яичников после различных оперативных вмешательств, установленные к окончанию эксперимента (30-60-е сутки), свидетельствуют о количественных и качественных ограничениях нормального фолликулогенеза. Фолликулярный рост и атрезия замедляются, фолликулы подвергаются преждевременной лютеинизации и кистозной трансформации. Исходом являются хроническая ановуляция и фиброзная атрофия яичников. Изменения сопоставимы вне зависимости от серии опытов.

В яичниках экспериментальных животных завершается ликвидация некротического детрита, созревает грануляционная ткань, формируются соединительно-тканые рубцы, содержащие толстые коллагеновые волокна. В перифокальных областях интенсифицируется развитие фибробластов. В отдельных полях зрения отмечается пролиферация эндотелиоцитов и неоангиогенез. Количество РФ вне зависимости от объёма операции снижается, редко визуализируются предовуляторные. Дегенерация РФ включает деструкцию зернистого слоя, конденсацию хроматина, кариопикноз, дисконплексаию фолликулярных эпителиоцитов, оворексис.

Часть зрелых фолликулов подвергается преждевременной лютеинизации, которая, как правило, охватывает всю фолликулярную стенку, распространяясь от клеток внутреннего слоя теки на фолликулярные эпителиоциты. Количество ЖТ аналогично значениям контроля. Неправильная и небольшая форма ЖТ, неравномерное расположение, наличие кровоизлияний, вероятно, является следствием преждевременной лютеинизации фолликулов. Несмотря на это большое количество ЖТ в серии опытов по удалению яйцеводов свидетельствует об интенсивном стероидогенезе [4].

Наряду с вышеописанными изменениями собственные эксперименты демонстрируют наличие локусов стромальной гиперплазии (текоматоза),

наиболее выраженные при ЭХ яйцеводов (\pm маточных рогов). В строме коркового вещества визуализируются очаги гипертрофированных эндокриноцитов вне связи с фолликулами. По аналогии с СПКЯ наблюдается утолщение белочной оболочки, однако лютеогенез сохраняется. Оба процесса (преждевременная лютеинизация и стромальный текоматоз) инициируются уже с 10-х суток опыта, однако максимально выражены через 1 месяц после удаления яйцеводов, что в целом согласуется с данными литературы.

Согласно действующей гипотезе [224] существует определённый порог чувствительности к гонадотропину, преждевременная лютеинизация может произойти при ЛГ $> 10-12,4$ МЕ/л, прогестерона $> 1-2$ нг/мл [132]. Преждевременная овуляция развивается при уменьшении ОР, у женщин позднего репродуктивного и перименопаузального периода. При эстрогендефицитных состояниях преобладает синтез андрогенов в связи с более высокими концентрациями биологически активного ЛГ [231]. Поэтому закономерным проявлением ОН на морфологическом уровне является гиперплазия стромы и внутреннего слоя теки.

Для полноценной овуляции с точки зрения развития компетентной зиготы в дальнейшем необходимо чтобы предовуляторный выброс ЛГ происходил после достижения зрелости соматических структур фолликула, а также после созревания цитоскелета и компонентов ооплазмы. Отмена ареста мейоза (созревание ядра) знаменует переход от GV до MII стадии и происходит при отделении клеток гранулёзы от овоцита [12]. Соответственно при гистологическом исследовании нарушение архитектоники фолликулярных эпителиоцитов (дискомплексация, вероятно, разрыв контактов), особенно в апикальной области, установленные в серии настоящих опытов с комбинированным удалением матки и яйцеводов, являются начальными проявлениями преждевременной лютеинизации и ОН. Участки стромального текоматоза обнаруживаются с 10-х суток опыта.

Причиной преждевременного увеличения прогестерона может быть большой объём зрелых клеток гранулёзы, обусловленный действием высоких

концентраций ФСГ, что не имеет связи с активностью ЛГ [358]. Исследованием I. Segers et al. (2012) показано, что при добавлении ЛГ в процессе стимуляции яичников меняются паттерны экспрессии некоторых хемокинов в клетках гранулёзы, однако процесс не сопровождается преждевременной овуляцией [195]. В серии настоящих экспериментов по удалению маточных рогов и яйцеводов удельный объём гранулёзы снижался, однако процессы преждевременной лютеинизации фолликулов были максимально выражены.

Собственные данные демонстрируют, что с 30-х суток после комбинированного удаления матки и яйцеводов в паренхиме коркового вещества инициируется кистозная трансформация фолликулов. Выявляются как кисты с лютеинизацией, начинающейся с клеток теки, так и ретенционные образования с уплощённой выстилкой. Согласно настоящим наблюдениям и данным литературы кисты формируются как из зрелых фолликулов, в которых не произошла овуляция, так и из АФ. Полная дегенерация и цитоллиз овоцитов предшествуют значительному накоплению жидкости в кисте. Эволюция кист с выстилкой сводится к процессам дегенерации и атрофии специфических секреторных элементов (фолликулярной и текальной оболочек), вплоть до полной редукции. В результате формируются гормонально неактивные ретенционные образования. Данные согласуются с таковыми в литературе. S. Ozdamar et al. (2005) показано, что через 6 месяцев после удаления маточных рогов в эксперименте у крыс формируется гипергонадотропное состояние, причиной которого является выраженная кистозная трансформация фолликулов. Клетки теки и фолликулярный эпителий в ретенционных полостях отсутствует [153]. Согласно собственным данным в более ранние сроки опыта кисты могут формироваться из РФ.

В пременопаузальный период кисты яичников при наличии пролиферативных изменений в эндометрии являются физиологической нормой, сопряжённой с угасанием функции гонад, свидетельствуют об их сохраняющейся гормональной активности [240]. По мнению Н.Н. Ortega et al.

(2016) наличие кист яичников вне зависимости от возраста представляет серьёзную угрозу репродуктивной функции [186].

Собственные более ранние эксперименты показывают, что одной из основных гипотез формирования кист яичников является дисбаланс ЛГ. Функциональные кисты формируются при недостаточном предовуляторном повышении ЛГ или уменьшении экспрессии его рецепторов, а также выбросе без доминантного фолликула [474]. При отсутствии лидирующего фолликула ключевым фактором кистогенеза является нарушение отрицательной обратной связи – нечувствительность гипоталамических нейроэндокринных клеток к половым стероидам, для восстановления которой необходимо действие прогестерона. A. Gümen & M.C. Wiltbank (2005) показано отсутствие своевременного выброса ЛГ при экзогенном введении E_2 [219]. Настоящее исследование показывает как высокую эстрогенную насыщенность вследствие активного фолликулярного роста в серии опытов по удалению яйцеводов (\pm маточных рогов), так и нарушения процесса овуляции (преждевременная лютеинизация), что в целом подтверждает высказанную выше гипотезу.

Единственной структурной единицей, сохраняющей свою целостность на протяжении всех серий опытов без непосредственной травмы яичника, оказывается ПФ. Их популяция мало зависит от регуляторных механизмов [232], в силу чего наиболее устойчива к повреждению. Запас ПФ, имеющийся в неонатальном яичнике, обычно достаточен для поддержания фолликулогенеза в репродуктивном периоде даже без источника обновления [276]. В литературе описано, что любое экспериментальное воздействие без прямого повреждения ПФ не сопровождается их нарушением [6, 411]. Устойчивость к различным внешним факторам, в том числе в проведённом опыте к ЭХ, обуславливает глубокий биологический смысл, направленный на возможность обеспечения полноценными зрелыми ооцитами всего репродуктивного периода жизни [464].

Изменения поверхностного эпителия в ранние сроки опыта по ЭХ яйцеводов включают деструкцию и десквамацию в фокусе воздействия, набухание цитоплазмы и гидропические изменения ядер. Белочная оболочка

утолщена за счёт отёка. В дальнейшем, начиная с 10-х суток эксперимента, в большинстве случаев выраженных деструктивных изменений поверхности яичников не выявляется. Поверхностный эпителий принимает обычное строение и вид. Однако часто независимо от дальнейших сроков эксперимента обнаруживаются участки метаплазии с формированием столбчатых структур, нарушением рядности / слоя клеток.

Изменения поверхностного эпителия интересны прежде всего с точки зрения гинекологической онкологии, так как 90% карцином яичника возникает именно из этих клеток [309]. Обширные участки десквамации эпителия, выявленные в настоящем исследовании, являются следствием не только обширных дефектов, но и слабого прикрепления клеток к базальной мембране [342]. Наиболее важную роль в согласованности различных функций поверхностного эпителия при физиологических и патологических процессах играют межклеточные контакты, отдельные кадгеринины и интегрины. Эпителиальный кадгерин опосредует селективную межклеточную адгезию, конституционально присутствует в эндосальпинксе, эндометрии и эндоцервиксе женщины, также поверхностном эпителии грызунов [342]. В поверхностном эпителии яичников человека наличие молекулы адгезии означает склонность к аберрантной эпителиальной дифференцировке, проявляющейся участками метаплазии и / или неоплазии [110]. В настоящей работе признаков кортикальной инвагинации и инклюзионных кист, как начальных морфологических проявлений злокачественной трансформации [410], установлено не было.

Если в случае деструкции эпителия при операции его пролиферация сопряжена с процессом восстановления, то сохраняющиеся морфогенетические преобразования вплоть до окончания эксперимента выходят за пределы понимания репаративного процесса. Экспрессия кадгеринов в женских репродуктивных тканях находится под контролем эстрогенов и прогестерона. [309]. При активации роста фолликулов оперативным лечением увеличивается объём гранулёзы, следствием является относительное гиперэстрогенное

состояние, что демонстрируют собственные данные. В то же время согласно данным электронной микроскопии плоскоклеточная и кубовидная формы поверхностного эпителия представляют собой группы клеток, не подвергающиеся постовуляторной пролиферации [203]. Соответственно, если изменение формы и рядности всё же является следствием избыточной репарации, то этот процесс неполноценен с точки зрения завершённости фолликулогенеза.

Ещё одним научным фактом следует считать возможность развития овоцит-подобных структур в культурах поверхностного эпителия яичников при добавлении факторов, обладающих эстрогеновой активностью [412]. То есть выраженное истощение фолликулярного пула вследствие активного рекрутирования ПФ и преобразования поверхностного эпителия могут являться следствием нео-оогенеза. Однако доказательств такового в настоящей работе не установлено.

Анализ результатов морфоколичественного исследования. Наиболее показательной и функционально значимой для выявления / подтверждения влияния конкретного оперативного вмешательства (удаления маточных рогов, яйцеводов или их сочетания) на гонады является динамика овосоматических гистионов и основных структурно-тканевых элементов яичников.

Тестами многомерной статистики (с последующим post-hoc анализом) показано, что вне зависимости от проведённого оперативного вмешательства на протяжении 60-и суток наблюдения отмечается существенная динамика снижения количества не только РФ, но и ПФ, АФ, ЖТ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} \leq 0,001$). В целом для РФ и АФ изменения носят однонаправленный характер ($p_{\text{Джонкхира-Терпстры}} \leq 0,014$). Изолированное удаление маточных рогов и комбинированное вмешательство (+ яйцеводы) также приводит почти к линейному снижению количества ПФ и ЖТ ($p_{\text{Джонкхира-Терпстры}} \leq 0,014$). На 40-60-е сутки эксперимента снижение числа основных генеративных элементов яичников по сравнению с контролем достигает разницы: до 5,6 раз для ПФ ($p_{\text{Даннетта}} < 0,001$), до 1,9 раз для РФ ($p_{\text{Даннетта}} < 0,001$), до 5,1 раз для АФ ($p_{\text{Даннетта}} < 0,001$).

Согласно современным представлениям, морфологическими признаками овариального старения являются гиалиноз артерий, компенсаторное расширение вен, склероз сосудов, очаговый гиалиноз и уменьшение стромы, утолщение белочной оболочки, преобладание грубоволокнистой соединительной ткани в мозговом веществе [19], описанные ранее в настоящем опыте при гистологическом изучении гонад, а также отсутствие фолликулярной активности [334, 359, 403]. Указанные изменения могут также наблюдаться при ряде патологических состояний в репродуктивном возрасте: хроническом воспалительном процессе в придатках матки, ановуляторном бесплодии [19]. Однонаправленный характер изменений и угнетение всех основных генеративных элементов в представленном эксперименте наглядно демонстрирует последствия любого оперативного вмешательства на ОМТ, даже без прямого воздействия на яичники.

Существенными являются результаты сравнения с контролем, указывающие на некоторые различия в динамике овосоматических гистионов в зависимости от типа операции. В ранние сроки после вмешательства (2-10-е сутки) ишемия генеративного и эндокринного аппарата яичников приводит к инициации ПФ, о чём свидетельствуют снижение их количества, относительное увеличение растущих форм, наличие положительной корреляции между ними ($r_p=0,557$, $p<0,001$), наиболее выраженной после изолированного удаления матки. После ЭХ воздействия на яйцеводы прогрессивное снижение ПФ по сравнению с контролем в 1,9 раз регистрируется уже со 2-х суток опыта ($p_{\text{Даннетта}}=0,003$), к 10-м достигает разницы в 3 раза ($p_{\text{Даннетта}}<0,001$). Аналогичная тенденция наблюдается после комбинированного удаления маточных рогов и яйцеводов с 10-х суток опыта ($p_{\text{Даннетта}}<0,001$), причём наиболее резкое снижение отмечается именно со 2-х по 10-е сутки, когда разница превышает 3 раза. При изолированном удалении маточных рогов уменьшение ПФ показано на 30-е сутки, является относительным, так как существенные отличия обнаружены только при сравнении с предыдущей точкой опыта ($p_{\text{Манна-Уитни}}<0,001$).

Важно отметить, что в последней указанной серии опытов зоны непосредственного повреждения коркового вещества яичников электрическим током не установлены. Любое хирургическое вмешательство в области коры гонад заканчивается не только образованием перивариальных спаек, но и ведёт к глубоким нарушениям кровообращения и иннервации органа, гибели генеративных элементов, нарушению гормонального гомеостаза [60]. Кроме того, электрогемостаз сопровождается более выраженной воспалительной реакцией, повреждением эндокринного аппарата яичников, характеризуются шоковым воздействием на овоциты, что в совокупности приводит к снижению ОР [3, 142]. В тоже время незначительная электротравма яичников может иметь благоприятные последствия для функции гонад [135]. Наиболее вероятный эффект операции связан со снижением андрогенов и ингибина, вторичным повышением ФСГ вследствие разрушения коры. Дальнейшие результаты собственных гормональных исследований подтверждают данную гипотезу. Тепловая травма инициирует воспалительные факторы роста, в частности действие инсулиноподобного фактора роста 1 потенцирует действие ФСГ на фолликулогенез. Гемодинамические изменения, в виде усиления кровотока, застойного полнокровия сосудов обеспечивают доставку гонадотропинов [302].

Согласно собственным данным морфологического исследования активация роста фолликулов отмечена во всех сериях опыта, однако в ранние сроки эксперимента наиболее выражена после удаления маточных рогов. Количество РФ на 2-е сутки в 1,3 раза выше значений контроля ($p_{\text{Даннетта}} < 0,001$). После удаления яйцеводов абсолютное значение РФ больше такового в контрольной группе в 1,2 раза и менее существенное ($p_{\text{Даннетта}} = 0,024$), а после комбинированного вмешательства даже ниже в 1,3 раза ($p_{\text{Даннетта}} = 0,001$). В сериях эксперимента с удалением яйцеводов (\pm маточных рогов) также отмечено существенное замедление атрезии. Количество АФ снижается в 1,6-1,7 раз ($p_{\text{Даннетта}} < 0,001$).

К 10-м суткам опыта количество РФ после удаления маточных рогов (равно как и яйцеводов) уже соответствует значениям контроля ($p_{\text{Даннетта}} \geq 0,130$), а при

комбинированном объёме остаётся на значимо более низком уровне ($p_{\text{Даннетта}}=0,010$). С увеличением срока опыта редукция как РФ, так и ПФ продолжается (анализ представлен выше). Соответственно стимуляция носит кратковременный характер, а результаты подтверждают зависимость активации фолликулярного роста от объёма вмешательства. Большая оперативная травма приводит к более выраженному повреждению генеративного аппарата и сопровождается менее выраженной активацией фолликулярного развития, что согласуется с данными литературы [29, 135, 302].

В течение почти столетия было известно, что повреждение яичников может способствовать фолликулярному росту [253], однако только в настоящее время появилось убедительное научное обоснование указанного положения. Учёные Стэнфордского университета во главе с А. Hsueh (2015) показали, что сигнальный путь *Nippo* ограничивает, а *CNN* факторы роста стимулируют преантральный фолликулярный рост [253]. *Nippo* является ведущим эволюционным сигнальным путём, ингибирующим пролиферацию клеток и стимулирующим апоптоз во всех многоклеточных организмах [221]. После активации и выхода из состояния покоя локальные сигналы *Nippo* определяют различную траекторию роста фолликулов, связанную с этим разную продолжительность их жизни (23-90 дней) [253]. ПФ расположены в кортикальной области, экстрацеллюлярный матрикс которой более жесткий, чем таковой в медуллярной области. С увеличением роста фолликулов они отдаляются от поверхности яичников. Данные собственных исследований это подтверждают. Активность транскрипционного коактиватора *YAP* повышается в жёстком внеклеточном матриксе [386]. Взаимодействие с белком транскрипции *TEAD* эпителиоцитов гранулёзы увеличивает экспрессию факторов роста (*CCN*) и ингибиторов апоптоза (*BIRC*). Более крупные фолликулы усиливают сигнализацию *Nippo* в соседних небольших фолликулах, подавляя их рост. То есть механотрансдукция *Nippo* поддерживает фолликулы в неактивном состоянии.

Во время каждой овуляции структурные изменения, обусловленные разрывом фолликула, могут нарушать местную сигнализацию Hippo – индуцировать полимеризацию актина вблизи поверхности яичников. Ежемесячное нарушение сигнализации, приводящее в итоге к «сверхпролиферации» поверхностного эпителия, может способствовать формированию рака яичников. Дефекты генов сигнального пути Hippo сопряжены не только с онкогенезом, активация пути также имеет место при ПОН и снижении ОР при бесплодии [253]. Учитывая описанную выше морфологическую картину, а именно активацию ПФ, стимуляцию фолликулярного роста, изменения поверхностного эпителия следует признать, что любая операция так или иначе связанная с повреждением гонад (в том числе непрямо) может нарушать Hippo сигнализацию.

Несмотря на положительные краткосрочные эффекты оперативного лечения полноценность фолликулогенеза в представленном исследовании ограничена не только количественно, но и качественно. Фолликулы, вероятно, достигают только гонадотропинзависимой стадии роста, во-первых, по тому что на 2-е сутки во всех сериях количество ТРФ не превышает значения контроля ($p_{\text{Даннетта}} \geq 0,017$, при критическом $p=0,010$), во-вторых – повышается именно абсолютное число вторичных форм ($p_{\text{Даннетта}} \leq 0,001$). О преждевременной лютеинизации свидетельствуют наличие существенной положительной корреляция между ВРФ и ЖТ ($r_{\text{Пирсона}} < 0,001$) во всех сериях опыта. После удаления яйцеводов установлена также вероятность преждевременной лютеинизации ПРФ (слабая положительная корреляция между ними и ЖТ; $r_p=0,180$, $p=0,005$), а в случае дополнительного удаления маточных рогов ещё обнаруживается отрицательная взаимосвязь между количеством ТРФ и ЖТ ($r_{\text{Пирсона}} < 0,001$). Результаты корреляционного анализа в группе контроля имеют прямо противоположный результат: отсутствует взаимосвязь между ПРФ и ЖТ, а между ТРФ и ЖТ корреляция положительная и выраженная ($r_p=0,656$, $p < 0,001$). Данные показывают, что ранняя лютеинизация встречается во всех сериях и

указывают, что чем больше степень повреждения, тем ниже вероятность достижения фолликулом заключительных этапов развития.

Согласно данным W. Zheng et al. (2014) у взрослых млекопитающих имеет место две популяции ПФ [464]. Первая волна активированных фолликулов ановуляторная, необходима для становления гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси в период полового созревания и играет ключевую роль в начале репродуктивной жизни. Вторая – способствует непрерывной овуляции на протяжении средних и поздних стадий фертильного периода, ответственна в том числе за овариальное старение [464]. Вполне возможно, что чрезмерная активация ПФ в настоящем исследовании при удалении матки затрагивает и вторую их популяцию. Тогда полноценного роста и созревания (достижения овуляторной стадии) может не происходить, что в результате приведёт к атрезии и / или кистообразованию, формированию хронической ановуляции.

Наличие хронической ановуляции у подопытных крыс подтверждается не только корреляционным анализом, но и динамикой ЖТ, наиболее выраженной при комбинированном объёме оперативного лечения. Снижение ЖТ в 1,3-2,3 раза по сравнению с контролем выявлено на 40-60-е сутки опыта ($p_{\text{Даннетта}} \leq 0,012$).

Согласно собственным данным кисты в яичниках чаще обнаруживаются к окончанию опыта, имеют большой размер, занимают значительную часть фолликулярного гистиона. Удельный объём фолликулярных полостей в ранние сроки (2-е сутки) после удаления маточных рогов и яйцеводов не превышает 1%, постепенно увеличивается, к окончанию эксперимента (60-е сутки) составляет почти 9% ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,001$), более чем в 2 раза превышает значения контроля (4%; $p_{\text{Даннетта}} = 0,044$). Тесты многомерной статистики демонстрируют, что динамика описанных изменений значима ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} = 0,013$; $p_{\text{ANOVA}} = 0,008$). Наиболее вероятно, что значительные по размерам кисты гонад обуславливают отсутствие существенного изменения $V_{\text{я}}$ на 60-е сутки ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} = 0,015$). В предыдущие сроки опыта (40-е сутки) отмечено значимое ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,003$) снижение $V_{\text{я}}$ после одномоментного удаления маточных рогов и яйцеводов (12,6 мм³) по сравнению с контролем (24,3 мм³). В литературе также имеются

указания на увеличение V_y после ГЭ, вероятно по причине ретенционных кист [336]. Снижение объёма гонад вследствие фиброзной атрофии яичников является заключительным этапом старения яичников [19], по-видимому, и финалом ОН [191].

Об избыточном кистообразовании также свидетельствует повышение удельного объёма кистозно-атрезирующихся фолликулов в настоящей работе, который на протяжении эксперимента увеличивается в 3 раза от 3 до 9%. Как итог, на 40-60-е сутки опыта увеличение становится существенным, так как разница с контролем достигает 2,4-2,6 раз ($p_{\text{Даннетта}} \leq 0,003$).

Собственные данные демонстрируют, что удельный объём *zona pellucida* после удаления маточных рогов и яйцеводов значительно снижается. В ранние сроки опыта составляет всего 0,2-0,3%, что в 10 раз ниже такового в контроле (2,6%). Вероятно, некоторое повышение удельного объёма указанного структурного элемента в дальнейшем до 0,8-1,1% лежит в основе получения незначимого результата тестами многомерной статистики в целом ($p_{\text{Краскелла-Уоллиса}}=0,054$; $p_{\text{ANOVA}}=0,094$). Тем не менее к окончанию эксперимента (60-е сутки) *zona pellucida* практически не выявляется (средний удельный объём равен нулю). Цитохимический анализ, электронно-микроскопические и молекулярно-генетические исследования *zona pellucida* демонстрируют, что указанный элемент представляет собой зону трофического и информационного контакта овоцита и фолликулярных эпителиоцитов, в организме млекопитающих играет важную роль в оогенезе, оплодотворении и имплантации [484]. Следовательно, нарушения, регистрируемые в указанном компартаменте фолликула, неизбежно приводят к повреждению половой клетки, в контексте проведённого исследования свидетельствуют о неполноценности фолликулогенеза.

Настоящей работой показано, что среди соматических элементов фолликула основными структурными единицами являются фолликулярный эпителий и внутренний слой теки, выполняющие наибольшую функциональную нагрузку в гистионе, о чём свидетельствуют их наиболее выраженные морфогенетические преобразования в процессе развития. От морфофункционального состояния

фолликулярных эпителиоцитов и текальных эндокриноцитов на каждом из этапов фолликулогенеза, активности рецепции с гонадотропинами, уровня продукции половых стероидов, взаимодействия с иммунокомпетентными клетками зависит судьба всего овосоматического гистиона [490].

Удельный объём гранулёзы, внутреннего слоя теки и стромы в представленном исследовании демонстрируют, что данные структурные элементы наиболее отзывчивы к повреждающему воздействию. После удаления маточных рогов и яйцеводов, несмотря на стимуляцию роста фолликулов удельный объём гранулёзы снижается, наиболее выражено на 2-е сутки (6%), по сравнению с контролем разница достигает 1,4 раза (8%), однако в дальнейшем соответствует значениям контроля, что и обуславливает не существенный результат в целом ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,714$). Вероятно, снижение объёма гранулёзы свидетельствует о более выраженном повреждении гормонально-активной ткани яичников наибольшим объёмом оперативного лечения, а соответствие удельного объёма фолликулярных эпителиоцитов на 10-е сутки уже отражает, описанную выше тенденцию в стимуляции роста фолликулов.

В ранние сроки (2-е сутки) после удаления маточных рогов и яйцеводов удельный объём внутреннего слоя теки также ниже значений контроля в 1,3 раза (0,6% vs 0,9%). На 10-е сутки отражает активную продукцию андрогенов, проявляющуюся текоматозом, так как значительно увеличивается по отношению к предыдущей точке опыта и контролю почти в 2 раза. При многомерном анализе результат всё же незначим ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,869$).

Наиболее существенны морфоколичественные изменения стромы ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,007$), удельный объём которой к окончанию эксперимента (60-е сутки) составляет всего 36%, что значительно ниже такового в ранние (2-е сутки) сроки (55%; $p_{\text{Манна-Уитни}}=0,002$) и в контроле (52%; $p_{\text{Даннетта}}=0,020$). Несмотря на гемодинамические нарушения удельный объём сосудов на протяжении эксперимента меняется менее наглядно ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,545$), вероятно, в силу меньших значений абсолютных цифр удельного объёма. График больше напоминает параболу, когда снижение условно соответствует середине опыта, а

к окончанию эксперимента (60-е сутки) удельный объём сосудов после операции выше контроля на 15%. При многомерном анализе результат всё же незначим ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,545$). В целом, полученные данные должны свидетельствовать о высокой гормональной активности яичников вначале опыта, прогрессивном и стойком её снижении в окончании, что представлено в обсуждении ниже.

Анализ результатов кольпоцитологии и гормонального исследования. ЭХ воздействие на ОМТ вне зависимости от объёма операции приводит к существенным изменениям в кольпоцитологической картине. Начиная со 2-х суток после операции у животных появляется диэструс. К 30-60-м суткам наблюдается укорочение диэструса и удлинение эструса, неустойчивый эстральный цикл. Вероятно, одним из первых проявлений ОН являются нерегулярные циклы, которые могут также чередоваться с эстральными циклами нормальной продолжительности. Известно, что у грызунов в отличие от человека «период менопаузального перехода» сопровождается только увеличением продолжительности цикла (более 4-5 дней), укорочение менее 4 дней не встречается [183]. В экспериментах по удалению гонад самок крыс наиболее полно прослеживается переход от нерегулярных эстральных циклов до полного прекращения гормональной активности яичников (анэструса). Показано три варианта истощения функции яичников [183]. При первом варианте увеличение эстрального цикла до 6-10 дней сопровождается в последующем непрерывным эструсом, персистенцией вагинального ороговения, а также ановуляторным состоянием с мультифолликулярными изменениями в гонадах. При втором варианте перехода постоянный эструс может прерываться длительным диэструсом с редкими овуляциями (обозначается как состояние псевдобеременности). При третьем варианте анэструс следует непосредственно за нерегулярным эстральным циклом. Проведённое исследование демонстрирует, что отсутствие анэструса у подопытных животных предполагает наличие гормональной активности яичников, а персистенция эструса и состояние хронической ановуляции являются следствием высокой эстрогенной насыщенности [183]. По мнению С.Е. Finch (2014) основным механизмом

всплеска гонадотропинов, эструса и гиперпродукции E_2 является гипоталамо-гипофизарная десенсибилизация [183].

Аналогичные изменения могут также встречаться у женщин во время менопаузального перехода. Исследования гормональных сдвигов при физиологическом овариальном старении у человека в течение последнего десятилетия показывают, что перименопаузальный переход не характеризуется снижением уровня E_2 , как считалось ранее, а скорее является эстроген персистирующим состоянием [364]. Согласно данным F. Al-Azzawi F. & S. Palacios (2009) в перименопаузальном периоде фаза стойкого повышения ФСГ происходит у женщин, чей организм насыщен эстрогенами и андрогенами, когда овоциты ещё не подвергаются разрушению [46]. Подобные изменения являются универсальными начальными признаками ОН, предшествуют полной клинической картине угасания функции яичников не только в естественных условиях (постменопауза), но и при различных патологических состояниях, как показывают собственные результаты, в том числе после радикальных операций на матке и маточных трубах. J.C. Prior (1998) описывает указанное состояние как «парадоксальную эндогенную гиперстимуляцию яичников» [363]. Мета-анализ 12 исследований показывает, что в перименопаузальный период значения E_2 в среднем на 30% выше таковых до менопаузы [363]. Последующие исследования подтверждают эту тенденцию [157, 366]. Практически все без исключения модели натуральной менопаузы у животных демонстрируют высокую эстрогенную насыщенность при увеличенных значениях ФСГ [304], что в целом соответствует результатам проведённого исследования.

В настоящее время нет единого мнения по поводу характера гормональных, рецепторных и ферментных нарушений после ГЭ и СЭ. O.L. Tapisiz et al. (2008) показано, что через 100 дней после ГЭ значительно снижается размер яичников ($p=0,01$), количество ПРФ ($p<0,001$) и ВРФ ($p<0,001$), повышается – ЖТ ($p<0,001$), АФ ($p=0,02$) и кист ($p=0,003$), значения ФСГ ($p=0,962$) и ингибина В ($p=0,476$) равнозначны ложнооперированным крысам [130]. Схожие результаты получены H. Toyganözü et al. (2014) [167] и F.M. Moiety et al. (2016) [105]. В

отношении изолированного удаления яйцеводов за последние 10 лет в основных наукометрических базах данных (Medline PubMed, Cochrane Library) представлено всего 4 экспериментальные работы, две наиболее мощные проведены в течение последних 2-х лет [255, 467]. Исследования ограничиваются описательной морфологией строения гонад, аналогичной таковой при радикальной операции на матке. Основными механизмами нарушения функции яичников авторы называют ишемию и реперфузионное повреждение. Данные о гистологическом строении гонад в представленных выше работах соответствуют описанным нами к окончанию эксперимента, в то же время настоящая работа демонстрирует более существенные изменения концентрации гормонов после удаления матки и маточных труб. Собственные данные показывают, что дегенеративные и атрофические процессы в гонадах проявляются снижением их стероидсинтетической функции только к окончанию опыта. М. Tanaka et al. (1994) являются одними из немногих исследователей, показавших стимуляцию роста фолликулов после удаления матки в ранние сроки опыта [154]. Механизмом, объясняющим ускоренное созревание фолликулов, авторы называют повышенную активность ароматазы яичников и увеличение концентрации E_2 в стадию диэструса. Собственные данные кольпоцитологии косвенно подтверждают указанную гипотезу.

Анализ работ как в отношении ГЭ, так и СЭ так или иначе демонстрирует снижение стероидсинтетической функции яичников в результате повреждения генеративного аппарата. Проведённое нами гормональное исследование полностью подтверждает собственные результаты морфологического анализа и литературные данные. Показано снижение АМГ и ингибина В на протяжении всего эксперимента. АМГ уменьшается на 62%, ($p_{\text{Даннетта}} < 0,001$), ингибин В – на 17% ($p_{\text{Даннетта}} < 0,001$) через 1 и 2 месяца, соответственно. Повышение гонадотропинов и снижение половых стероидных гормонов постепенное. Значимые увеличение ФСГ на 23% ($p_{\text{Даннетта}} < 0,001$) и уменьшение тестостерона на 56% ($p_{\text{Даннетта}} < 0,001$) установлены на 40-е и 10-е сутки опыта, соответственно. Следует отметить что к 30-м суткам опыта концентрация тестостерона после

операции максимальна, соответствует значениям контроля и морфологической картине стромальной гиперплазии. Степень выраженности гормональных изменений определяется объёмом операции и не зависит от выбора метода гемостаза. Концентрация ФСГ на 30-е сутки после удаления маточных рогов и яйцеводов путём лигирования соответствует таковой при использовании биполярной коагуляции ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,852$). Наибольшее повреждение яичников отмечается при комбинированном удалении маточных рогов и яйцеводов (снижение АМГ, тестостерона и ингибина В, повышение ФСГ), наименьшее – при изолированном удалении маточных труб или матки (снижение АМГ и тестостерона).

Анализ результатов молекулярного исследования. Фолликулогенез происходит постоянно и безостановочно, его дискоординация может приводить к различной гинекологической патологии [293]. В физиологических условиях рост и развитие фолликулов в яичниках требуют последовательности скоординированных мероприятий, которые вызывают морфологические и функциональные изменения внутри фолликула, приводящие к клеточной дифференцировке и развитию овоцитов [79]. На клеточном и ультраструктурном уровне показано, что деятельность внутреннего слоя теки [497] и капиллярной сети яичника [390], гранулёзы [188] и самого овоцита [333] может определять дальнейшую судьбу гистиона. Представленные в настоящем эксперименте данные свидетельствуют о значимых морфогенетических преобразованиях всех, указанных выше структур. Однако вопрос о том, что управляет ростом фолликулов окончательно не решён, обсуждается в научной литературе в течение длительного времени [173].

Высокоорганизованные антральные фолликулы находятся под контролем гипоталамо-гипофизарной системы, механизмами, поддерживающими фолликулярный рост, являются гормональные стимулы [390]. В то же время гонадотропинзависимый период знаменует конечные точки в развитии фолликулов, длится, как правило, не более 2-х недель, а количество и качество половых клеток уже предопределено [232]. В связи с чем большую значимость

приобретает изучение раннего фолликулогенеза, когда ключевые механизмы взаимодействия между овоцитом и соматическими клетками окружения реализуются с помощью ауто- и паракринных факторов [79]. Большинство молекулярно-генетических исследований в области репродуктивной биологии сосредоточено на физиологических процессах, происходящих в гонадах млекопитающих [196], в то время как исследований относительно механизмов вторичной ОН после хирургического лечения гинекологической патологии без прямого воздействия на яичники в литературе попросту нет.

Настоящее исследование демонстрирует вовлечённость в процесс угнетения функции гонад нескольких ключевых факторов раннего фолликулогенеза. При изучении химических процессов в яичниках дифференцированы все изучаемые молекулярно-биологические маркёры взаимодействия овоцита и соматических клеток окружения (ВМР15, Сх37), а также фактор пролиферативной активности гранулёзы (АМГ).

Собственные данные показывают, что экспрессия факторов в отдельных компонентах гонад после оперативного лечения оказывается типичной. Иммунолокализация ВМР-15 установлена в цитоплазме (реже во внеклеточном пространстве) овоцитов и эпителиоцитах яйценосного бугорка, что соответствует таковому распределению в литературе [161]. Наибольшей интенсивностью окраски характеризуются половые клетки ПФ и ПРФ, наименьшей – ВРФ и ТРФ, что свидетельствует в первую очередь о действии ростового фактора на доганодотропинзависимой стадии [443]. Экспрессия маркёра в фолликулярном эпителии оказывается более низкой, увеличивается по мере роста и развития фолликулов. С помощью иммуно-блот анализа показано, что сигнальная молекула экспрессируется исключительно в яичниках [329].

Результаты настоящего исследования демонстрируют, что экспрессия Сх37 установлена в овоцитах, фолликулярных эпителиоцитах, отдельных лютеоцитах и эндотелиоцитах сосудов яичников. Иммунопозитивная реакция волнообразно нарастает по мере роста и развития фолликулов, достигает максимума в конце преантральной стадии. Окрашены овоциты, zona pellucida, висцеральные клетки

гранулёзы и эпителиоциты яйценосного бугорка. ТРФ и зрелые характеризуются диффузной, неравномерной иммунолокализацией щелевого контакта в фолликулярных эпителиоцитах, менее интенсивной окраской овоцитов. Паттерн экспрессии Сх37 в яичниках грызунов в целом совпадает с таковым у других млекопитающих, а обнаружение максимально выраженной окраски во время преантральных стадий роста фолликулов выступает индикатором эссенциальной роли щелевого контакта в процессе раннего фолликулогенеза [104].

Экспрессия АМГ в представленной работе выявлена в цитоплазме фолликулярных эпителиоцитов всех типов фолликулов, отдельных лютеоцитах. ПФ и ПРФ характеризуются слабой и умеренной иммунопозитивной реакцией. По мере увеличения количества слоёв гранулёзы экспрессия АМГ возрастает, сохраняется во ВРФ, при увеличении полости которых резко снижается. Профиль экспрессии полностью соответствует описанию в литературе [278].

Иммуногистохимические исследования в ткани яичника человека подтверждают отсутствие экспрессии АМГ в ПФ, наряду с высокой иммунопозитивной реакцией в первичных, вторичных, преантральных и малых антральных фолликулов диаметром <4 мм [53]. Появление слабой иммунопозитивной реакции в ПФ в представленном исследовании, вероятно, свидетельствует об их активации и приобретении митотического потенциала прегранулёзными клетками, а морфоструктура ещё не позволяет отнести их к классу растущих. Экспрессия АМГ постепенно снижается в фолликулах диаметром от 4 до 8 мм [487], однако может определяться в эпителиоцитах яйценосного бугорка преовуляторных фолликулов [387].

Несмотря на типичную экспрессию изучаемых факторов после комбинированного удаления маточных рогов и яйцеводов, применение полуколичественной методики подсчёта (H-score) позволяет установить профиль изменений сигнальных маркёров, отличный от такового в контрольной группе, а также проследить последовательность регуляции фолликулогенеза при вторичной ОН после хирургического лечения.

Согласно тестам многомерной статистики отмечается значимая динамика экспрессии ВМР-15 в течение 30-и суток опыта в овоцитах ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} < 0,001$) и фолликулярном эпителии ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} \leq 0,034$) всех типов фолликулов. Весьма похожие данные получены для Сх37. Высокодинамичные изменения установлены в овоцитах более крупных фолликулов – ВРФ и ТРФ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} < 0,001$), а также в фолликулярных эпителиоцитах более мелких (ПФ и ПРФ) и АФ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} \leq 0,005$). Существенные отличия показаны в иммунолокализации АМГ в гранулёзе фолликулов ранних этапов развития (ПРФ и ВРФ) и подвергающихся атрезии ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} \leq 0,001$). В целом, профили экспрессии соответствуют описательной характеристике, и полностью отражают динамику изменений при физиологическом фолликулогенезе.

Результаты собственных исследований показывают, что на молекулярном уровне развитию вторичной ОН в ранние сроки опыта предшествует снижение активности АМГ в фолликулярном эпителии преантральных ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,011$) и малых антральных ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,001$) фолликулов, увеличение экспрессии ВМР 15 в овоцитах всех типов РФ ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,007$) и Сх 37 в овоцитах фолликулов, начиная с антральной стадии ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,001$) по сравнению с контролем. Последующие изменения сигнальных молекул (30-е сутки) демонстрируют относительное (по сравнению со 2-10-ми сутками опыта) снижение ВМР 15 ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,001$) и Сх 37 ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,013$) в овоцитах ВРФ и ТРФ.

Ранее установлено, что имеет место активная стимуляция роста фолликулов, настоящие данные свидетельствуют ещё и о высокой пролиферативной активности гранулёзы. В литературе имеются сведения, что основными функциями АМГ являются ограничение активации ПФ и ингибирование ароматазы (фермента, ответственного за ключевой шаг в биосинтезе E_2) [310], а также участие в селекции доминантного фолликула и ограничение ФСГ-зависимой вербовки [476]. Снижение экспрессии сигнального маркера в чувствительных клетках в настоящей работе сопровождается уменьшением сывороточных концентраций гормона и предполагает снятия

блока активации ПФ и ФСГ-зависимой вербовки. Активный рост фолликулов и усиленная продукция E_2 подтверждаются данными не только морфологического / морфоколичественного анализа, но и кольпоцитологией. АМГ действует вне зависимости от гонадотропных стимулов, исключительно на ранний фолликулярный рост. Об этом свидетельствуют отсутствие колебаний маркера на протяжении всего менструального цикла [108] и от приёма агонистов ГнРГ [305] или гормональных контрацептивов [397], являющихся фармакологическими состояниями, подавляющими активность гонадотропинов. Длительное снижение тормозящего влияния на фолликулогенез в представленной нами работе неизбежно сопровождается угасанием функции яичников, что подтверждается стойким снижением сывороточной концентрации АМГ вплоть до окончания опыта.

АМГ постепенно снижается не только с возрастом [73], но и при различных патологических состояниях, сопровождающихся угнетением функции яичников [50]. Кроме того, снижение АМГ может происходить до менопаузального повышения ФСГ, что демонстрирует более раннее начало угнетения функции гонад [204]. Экспериментальные исследования с использованием АМГ-нокаутированных животных показывают, что увеличенные темпы набора и чрезмерная фолликулярная вербовка приводят к стимуляции раннего фолликулогенеза, однако уже через 4 месяца обнаруживается значимое снижение ПФ, а нормальные значения ФСГ свидетельствуют о большей чувствительности к гонадотропину при отсутствии АМГ [57]. В то же время активный рост фолликулов неизбежно увеличивает вероятность их атрезии [392]. В совокупности настоящая работа и данные литературы свидетельствуют о преждевременном истощении яичников после удаления маточных рогов и яйцеводов.

Последствия сверхэкспрессии BMP-15 в овоцитах всех типов РФ, установленной в настоящем исследовании, стоит рассматривать через призму основных механизмов действия фактора. Согласно современным данным биологические эффекты белка включают в себя: 1) стимуляцию роста

фолликулов и их созревания, начиная от стадии ПРФ, 2) регуляцию чувствительности к ФСГ клеток гранулёзы и определение лимита овуляций, 3) предотвращение апоптоза фолликулярных эпителиоцитов и их лютеинизации, 4) содействие компетентному развитию овоцитов [324, 443]. Соответственно, повышенная экспрессия BMP-15 в овоцитах на 2-е сутки после удаления маточных рогов и яйцеводов в настоящем исследовании может свидетельствовать о высокой компетентности фолликуло- и оогенеза на всех стадиях развития фолликулов.

В клинике дефицит BMP-15 является одним из ведущих факторов женской инфертильности, миссенс мутации его гена ассоциированы с преждевременной ОН [443]. Собственные данные свидетельствуют, что повышенная экспрессии сигнального маркера увеличивает пролиферацию клеток гранулёзы на догонадотропинзависимой стадии. Результаты работы согласуются с таковыми в литературе [96, 217]. Исследование, проведённое нами, также показывает, что и более поздние этапы развития фолликулов контролируются BMP-15. G. Coticchio et al. (2015) установлено вовлечение сигнальной молекулы в процесс созревания овоцита через SMA- и MAD-связанную внутриклеточную сигнализацию [324]. Высокая компетентность оогенеза подтверждается собственными данными морфологического исследования. Однако следует отметить, что в серии опытов с удалением матки и яйцеводов высокая сопряжённость взаимодействия соматических клеток окружения и овоцита установлена только в ранние сроки опыта.

Вместе с положительным эффектом BMP-15 на рост и развитие фолликулов, избыточное действие белка может вызывать истощение фолликулярного пула, что демонстрируют собственные результаты. В экспериментах на мышах показано, что сверхэкспрессия BMP-15 вызывает не только ускорение фолликулогенеза, но и приводит к раннему снижению ОР [352, 443]. Вероятным механизмом истощения фолликулярного пула является преждевременная лютеинизация фолликулов. S. Fabre et al. (2006) установлено BMP-15 опосредованное подавление базальной и ФСГ-индуцированной секреции

прогестерона фолликулярными эпителиоцитами малых антральных фолликулов [377], путём даун-регуляции белка STAR через ALK3 путь [83]. Представленная нами работа показывает, что на 30-е сутки после удаления яйцеводов и маточных рогов выражены признаки преждевременной лютеинизации, а экспрессия BMP-15 снижается, что подтверждает данную гипотезу.

Наконец, третьим молекулярным фактором роста и развития фолликулов, представленным в настоящей работе, является Cx37. Увеличение экспрессии фактора в овоцитах фолликулов с антральной стадии роста, установленное в исследовании, свидетельствует о высокой сопряжённости фолликулярного развития и компетенции овоцитов. Щелевые контакты обеспечивают прямое взаимодействие между цитоплазматическими отсеками соседних клеток, присутствуют в различных органах и тканях, играют центральную роль в широком диапазоне физиологических функций [199]. Нами показано, что в гонадах крыс щелевые соединения, представленные Cx37, играют эссенциальную роль в регуляции фолликулогенеза. В трофическом и энергетическом обмене между половой клеткой и фолликулярными эпителиоцитами участвуют различные молекулы: пируват, аланин и гистидин, цАМФ, Ca²⁺ и / или инозитолтрифосфат, а также неорганические ионы, регулирующие pH овоцитов [184]. Несмотря на жёсткие требования к проницаемости Cx37, набор ключевых молекул, участвующих в росте овоцита, контроле мейоза и регуляции функции клеток гранулёзы не известен [382]. Значимость взаимодействия через щелевые контакты была продемонстрирована на грызунах [382]. Cx37-дефицитные яичники (GJA4 ^{-/-}) характеризуются замедлением роста овоцитов и не достигают стадий мейотической компетенции, рост фолликулов прогрессирует до поздней преантральной стадии, а мутантные гранулёзные клетки формируют структуры, напоминающие ЖТ, которые обычно образуются сразу после гибели овоцита в фолликуле [382]. Согласно данным M.J. Carabatsos et al. (2000) зрелые фолликулы у Cx37-нокаутированных мышей никогда не образуются, дефицит питательных веществ у овоцита сопровождается его ростом только на ¾ от такового в норме [327]. Согласно собственным и литературным данным связь

между половой клеткой и фолликулярным эпителием через Sx37 является основным механизмом регулирования образования ЖТ, а при нарушении взаимодействия происходит преждевременная лютеинизация фолликулов [138, 490].

Таким образом, собственные экспериментальные данные показывают, что удаление маточных рогов, яйцеводов, их сочетание вызывает гемодинамические изменения сосудов микроциркуляторного русла. При удалении яйцеводов (\pm маточных рогов) сосудистые нарушения более выражены в корковом веществе, обусловлены, вероятно, действием электрической энергии; удалении матки – в мозговом веществе, возможно, приводят к ишемии гонад. Оперативная травма яичников сопровождается стимуляцией роста фолликулов в ранние сроки всех серий опытов. Морфофункциональное состояние гонад характеризуется метаплазией поверхностного эпителия, текоматозом стромы, относительной гиперэстрогений, высокой компетентностью фолликуло- и оогенеза. Прогрессирующее расстройство кровообращения в микрососудах, вероятно, приводит к нарушению стероидсинтетической функции яичников в дальнейшем. Отмечаются дефектный фолликулярный рост, разрушению половых клеток, дегенерации и/или преждевременная лютеинизация фолликулов, кистообразование, формируется гипергонадотропный гипогонадизм.

Анализ результатов экспериментального применения дегидроэпиандростерона после комбинированного удаления матки и маточных труб. Учитывая эссенциальную роль эндогенного ДГЭА в организме человека [371] исследованы протективные эффекты последнего на функцию гонад при вторичной ОН. На 30-40-е сутки после индуцированной оперативным лечением (удалением матки и маточных труб) ОН и 4-х-недельного применения прогормона в яичниках подопытных животных на первый план выступают признаки активного фолликулогенеза и изменения стромального компонента. Часто обнаруживаются фолликулы разных стадий развития, имеющие нормальную морфологическую структуру, характеризуются выраженным внутренним слоем теки. Количество АФ снижено. Отсутствуют изменения

конфигурации фолликулов и признаки гипертрофии гранулёзы, свойственные атрезии крупных фолликулов, а также взаимосвязь между АФ и регионами яичников с гемодинамическими нарушениями. В строме гормонпродуцирующие клетки содержат большое количество вакуолей, вокруг мелких сосудов формируются очаги текоматоза.

Только применение морфоколичественного анализа в полной мере конкретизирует динамику овосоматических гистионов и основных структурно-тканевых элементов яичников после ДГЭА-лечения. Сразу после отмены прогормона (2-10-е сутки) удельный объём внутреннего слоя теки достигает 3%, гранулёзы – 15% vs 1% ($p_{\text{Даннетта}}=0,005$) и 8% ($p_{\text{Даннетта}}=0,062$) в контроле, соответственно. Количество РФ (прежде всего ПРФ) превышает значения группы сравнения до 2,1 раза ($p_{\text{Манна-Уитни}}<0,001$) и контроля до 1,7 раза ($p_{\text{Даннетта}}<0,001$). Содержание атретических форм снижается до 6,4 раза ($p_{\text{Даннетта}}<0,001$). О завершённости фолликулогенеза и сохранной овуляторной функции свидетельствуют увеличение количества фолликулов, достигающих предовуляторной стадии ($p_{\text{Даннетта}}<0,001$) и ЖТ ($p_{\text{Даннетта}}=0,001$), положительная корреляция между ними ($r_p=0,208$, $p=0,004$).

Гормональное исследование демонстрирует, что применение ДГЭА в эксперименте ограничивает снижение ОР после радикальных операций на матке и маточных трубах: предотвращает повышение ФСГ и уменьшение Тес ($p_{\text{Манна-Уитни}}\geq 0,160$ и $p_{\text{Манна-Уитни}}\geq 0,631$ при сравнении с контролем, соответственно).

Известно, что андрогены стимулируют фолликулогенез, наибольшее влияние связано с воздействием на преантральную и раннюю антральную стадию роста фолликулов [209]. Мужские половые гормоны также участвуют в переходе от первичных до вторичных фолликулов [495]. Собственные данные подтверждают указанные точки приложения ДГЭА. Эффекты андрогенов реализуются регуляцией транскрипции ядерных рецепторов, влияющей на экспрессию генов [277], а также путём негеномной сигнализации [281], обладающей возможностью тоже модулировать деятельность рецепторов мужских половых гормонов [209]. Локализация андрогеновых рецепторов в

яичнике определяет их эффекты. Наибольшая экспрессия рецепторов определяется в клетках гранулёзы, меньшая – в внутреннем слое теки, в целом выше в РФ, чем в АФ [193].

Андрогены выступают важными модуляторами дифференцировки фолликулярных эпителиоцитов, особенно во время ФСГ-зависимой ранней антральной стадии роста [277]. Экспрессия AR у крысы отрицательно регулируется андрогенами и ФСГ, опосредовано цАМФ [194], поэтому эффект андрогенов синергичен действию эндогенного ФСГ. Репродуктивные фенотипы мышей с дефицитом рецепторов андрогенов характеризуются преждевременным угасанием функции яичников и субфертильностью вследствие недостатка их функций в клетках гранулёзы, морфологически проявляются увеличением АФ, уменьшением антральных форм и ЖТ [394].

Стимулирующее действие прогормона на фолликулогенез в настоящем исследовании подтверждается динамикой увеличения количества РФ и снижения АФ. Следствием высокой гормональной активности яичников является увеличение объёма стероид-продуцирующих клеток гонад. Стромальный текоматоз и увеличение внутреннего слоя теки свидетельствует о сложном метаболизме предшественника половых стероидов [292], его выраженной конверсии в Тес [299], что клинически проявляется относительным повышением Тес по сравнению с таковым у животных только после операции и без применения ДГЭА. Учитывая наличие обратной зависимости активности рецепторов андрогенов и ФСГ [194], можно предположить положительный эффект прогормона на концентрацию гонадотропинов. Нами показано, что в отличие от животных без применения ДГЭА концентрация ФСГ ниже при использовании, однако не существенно, в то же время результат не отличается от контроля. Сопряжение между ТРФ и ЖТ свидетельствует о полноценности фолликулярного развития. M. Li et al. (2008) показан значительный вклад андрогеновых рецепторов в Тес-индуцированную активацию протеинкиназы в возобновлении овоцитарного мейоза [427], что отражает роль рецепторов в компетенции половых клеток. Тес, андростендион и ДГЭА обладают различным

средством к андрогеновым рецепторам. L.V. Lutz et al. (2003) показано, что только первые два гормона обладают выраженным эффектом на созревание овоцитов, в то время как ДГЭА тормозит Тес- и ХГ-индуцированную сигнализацию в них [393].

Таким образом, основными благоприятными эффектами применения ДГЭА при вторичной ОН, индуцированной комбинированной радикальной операцией на матке и маточных трубах, являются стимуляция раннего фолликулогенеза, сопряжённая с высокой компетентностью оогенеза, а также замедление атрезии.

Дальнейшие собственные результаты морфофункционального исследования яичников свидетельствуют об ограниченности положительного влияния ДГЭА в долгосрочной перспективе. Динамические и структурные преобразования в гонадах, наблюдаемые в течение месяца после отмены прогормона, указывают на формировании вторичной ОН с проявлениями, аналогичными, но менее выраженными чем после удаления маточных рогов и яйцеводов без применения прогормона. Происходит редукция основных генеративных элементов, проявляющаяся снижением количества ПФ на 50% ($p_{\text{Даннетта}}=0,063$), РФ на 25% ($p_{\text{Даннетта}}=0,661$), отмечается дефектный фолликуло- и лютеогенез, кистообразование, формируется хроническая ановуляция. Несмотря на то, что концентрация АМГ почти в 1,5 раза выше таковой у животных только с оперативным лечением ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,025$), она оказывается существенно ниже значений контроля ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,004$). Данные позволяют заключить, что эффекты ДГЭА на функцию яичников при ОН не могут полностью ликвидировать её последствия.

Анализ клинико-anamнестических характеристик пациенток с радикальными операциями на матке и маточных трубах. Первой частью клинической работы является проведение одноцентрового рандомизированного исследования в параллельных группах. В РКИ участвуют 50 женщин в возрасте 40-60 лет, которым проведена ГЭ по поводу миомы матки и АМК. Группы разделены на основании дополнительного объёма оперативного лечения (+/- удаление маточных труб). Работа включает три основных блока: оценку влияния

ГЭ на репродуктивное здоровье вне зависимости от оппортунистической СЭ (сравнения до и после оперативного вмешательства), 2) изолированную оценку каждого из объёмов хирургического лечения (сравнения «до» и «после» в каждой из групп), 3) сравнение исхода между группами.

Средний возраст всех пациенток в исследовании составляет $48,1 \pm 0,4$ лет (минимум 40 и максимум 56 лет), одинаков в двух сравниваемых группах ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,001$). Исходная гомогенность (скорость возрастной редукции фолликулярного аппарата равнозначна) по наиболее значимому фактору предполагаемого воздействия на репродуктивную систему позволяет адекватно интерпретировать полученные в дальнейшем результаты сравнения.

Согласно критериям включения, возрастной диапазон определён в 40-60 лет, базируется на докладе научной группы ВОЗ по исследованию менопаузы в 1990-х гг. [178, 222]. Однако почти 90% пациенток, вошедших в работу, имеет возраст ≤ 50 лет, в целом согласуется с данными литературы и демонстрирует высокую вероятность хирургического вмешательства в позднем репродуктивном периоде. P.G. Moorman et al. (2011) показано, что более половины всех ГЭ выполняется в репродуктивном периоде: около $\frac{1}{4}$ (24%) случаев в возрастной группе 35-39 лет, почти половина (43%) в 40-44 года и $\frac{1}{4}$ (27%) в возрасте > 44 лет [145]. Возраст, в котором проводится оперативное лечение с удалением матки имеет крайне важное значение для репродуктивного здоровья [116]. Понимание факторов, способствующих преждевременному выключению функции яичников, может выявить превентивные стратегии для лечения многих хронических, в том числе возраст-ассоциированных, заболеваний и улучшить качество жизни [116].

Показаниями для плановой госпитализации и оперативного лечения в настоящем исследовании являются: миома матки больших (более 12 недель) размеров (64%) и гиперпластические процессы эндометрия (64%). Сочетанные показания отмечаются более чем у половины (52%) женщин. Данные согласуются с таковыми в литературе. В. Brandsborg (2012) показано, что основными причинами ГЭ являются доброкачественные заболевания: АМК

(34%), миома матки (24%), пролапс гениталий (15%), хроническая тазовая боль (8%), эндометриоз (2%) и другие [85]. Согласно одной из скандинавских баз данных для всех женщин риск ГЭ по доброкачественным показаниям составляет 10% [460].

Здоровье женщин и возраст-обусловленная патология являются приоритетными направлениями предсказательной, превентивной и персонифицированной медицины [355]. Заболеваемость миомой матки и гиперпластическими процессами эндометрия увеличиваются с возрастом, и обе патологии часто могут сосуществовать [252]. В настоящей работе установлено, что сочетанные показания к госпитализации отмечаются более чем у половины (52%) женщин. Заболевания вследствие нарушения качества жизни имеют важное медико-биологическое и социально-экономическое значение [433]. АМК и хроническая тазовая боль при миоме матки связаны с ухудшением качества жизни [471], поэтому являются основными причинами обращения за медицинской помощью и ведущими показаниями для ГЭ [297]. Кроме того, удаление матки при симптомной миоме является наиболее эффективным вариантом лечения [134]. К наиболее частым клиническим проявлениям миомы матки относятся АМК, чувство давления / дискомфорт / боль внизу живота и нарушение репродуктивной функции [488]. Нарушения менструального цикла при лейомиоме установлены от 17 до 62% случаев [89], у каждой второй пациентки (49%) сопровождаются вторичной железодефицитной анемией [444].

Самыми частыми проявлениями гиперпластических процессов эндометрия также являются АМК, характер которых определяется типом пролиферативного процесса и возрастом женщин [454]. В перименопаузальном возрасте ациклические кровотечения чаще возникают после аменореи различной продолжительности или на фоне олигоменореи.

В представленной работе бессимптомного течения миомы матки и гиперпластических процессов эндометрия не выявлено. Самыми частыми проявлениями заболеваний являются нарушения менструального цикла в виде АМК, которые встречаются почти у каждой (92%) пациентки. Олигоменорея

обнаруживается в 4% случаев. Нарушение функции тазовых органов и болевой синдром встречаются у каждой второй (46%) пациентки.

В отличие от нормального менструального кровотечения, являющегося универсальным и затрагивающим 2/3 эндометрия, отличительной особенностью АМК является очаговое (прорывные кровотечения) или диффузное (кровотечение отмены) отторжение эндометрия, происходящее только в поверхностном слое эндометрия [179]. Согласно настоящей работе в результате этой разницы кровотечения часто непредсказуемые и непостоянные [118]. Результаты собственных исследований подтверждают современные концепции основных механизмов кровотечения при миоме матки. Большие размеры опухоли, вероятно, сопровождаются увеличением площади поверхности эндометрия, что также приводит к нарушениям сосудистой архитектоники в перимеоматозной зоне миометрия [311]. Дополнительными причинами кровотечения могут быть не справляющееся с увеличенным кровотоком тромбоцитарное звено гемостаза, нарушение коагуляционного потенциала крови, изменения вазоактивных субстратов [470].

В соответствии с общепринятыми патогенетическими парадигмами гиперпластических процессов эндометрия, последние возникают в ответ на какую-либо стимуляцию (воспаление, травма, функциональные изменения гормонального статуса и т.д.), изначально не имеющую опухолевого происхождения [355]. Результаты собственных исследований свидетельствуют, что гормональный дисбаланс, проявляющийся абсолютной или относительной гиперэстрогемией при недостатке уравновешивающих эффектов прогестерона, способствует избыточной эпителиальной пролиферации эндометриальных желёз. Данные соответствуют таковым в литературе [18, 454].

Частое выявление болевого синдрома в настоящей работе, вероятно, связано с нарастающей ишемизацией узлов вследствие изменений локального гормонального гомеостаза. Нарушенная моторика миометрия усугубляет микро- и макрогемодинамику [421].

Анализ репродуктивной функции пациенток в представленном исследовании демонстрирует высокую фертильность в анамнезе в обеих исследуемых группах ($p_{\text{точный Фишера}}=0,497$). Все женщины имеют в анамнезе беременность, детородная функция реализована у большинства (96%). Почти половина пациенток (42%) характеризуется наличием двух и более прерываний беременности. Для предупреждения нежеланной беременности 86% женщин ранее используют эффективные методы контрацепции, одинаково часто в обеих группах ($p_{\text{точный Фишера}}=0,217$), из них более половины (56%) – внутриматочные средства. В целом данные свидетельствуют о сохранной репродуктивной функции.

Одним из симптомов миомы матки может быть бесплодие и привычное невынашивание в зависимости от расположения и размера узлов. Симптомы отмечаются в первую очередь при субмукозных и интрамуральных миомах, деформирующих полость матки (любые размеры), а также при интрамуральных узлах диаметром более 4 см даже без деформации полости матки [499].

Настоящее исследование может подтверждать, что отсутствие нарушений репродуктивной функции в анамнезе является превентивным событием для развития / прогрессирования миомы матки, во всяком случае до клинического состояния, при котором возникает необходимость оперативного лечения. Изменение гормонального гомеостаза (неустойчивость функции яичников) в период менопаузального перехода является фактором риска прогрессирования заболевания [481]. После наступления менопаузы регресс миомы и симптомов заболевания отмечается только в 3-7% случаев [445]. В работе практически у трети пациенток (28%) отмечается быстрый рост миомы матки.

В представленном исследовании экстрагенитальная и гинекологическая патология выявлена у всех пациенток. У 2/3 женщин (64%) установлены заболевания желудочно-кишечного тракта и сердечно-сосудистой системы. У каждой второй (56%) пациентки выявлена мастопатия. Заболевания дыхательной и мочевыделительной систем обнаруживаются в 12-16% случаев. Избыточная масса тела и ожирение установлены с частотой 28% и 60%, соответственно. Частота соматической патологии оказывается одинаковой в сравниваемых

группах ($p_{\text{точный Фишера}}=0,385$). Возраст оказывает неблагоприятное влияние не только на состояние репродуктивной функции, но и здоровье в целом. Согласно полученным данным к возраст-ассоциированной патологии можно отнести ожирение ($p_{\Lambda\chi^2}=0,001$), заболевания желудочно-кишечного тракта ($p_{\Lambda\chi^2}=0,004$), дыхательной ($p_{\Lambda\chi^2}=0,040$) и сердечно-сосудистой ($p_{\Lambda\chi^2}=0,023$) систем, молочной железы ($p_{\Lambda\chi^2}=0,044$). В литературе описана наиболее тесная связь между старением и патологией сердечно-сосудистой, центральной нервной систем, злокачественными заболеваниями [479].

Избыточный вес выступает существенным фактором риска сердечно-сосудистой патологии [220], что согласуется с результатами представленного исследования ($p_{\text{точный Фишера}}=0,035$). Центральное ожирение, как компонент метаболического синдрома, также связано с риском лейомиомы матки [66]. В постменопаузальном возрасте высокие значения ИМТ сопутствуют 2/3 случаев аденокарциномы эндометрия, раку молочной железы и толстой кишки [381]. Учитывая, что по результатам гистологического исследования, предшествовавшего ГЭ в настоящей работе, гиперпластические процессы эндометрия выявлены у 56% женщин, а ожирение и избыточная масса тела – у 86%, радикальная операция помимо воздействия на качество жизни является серьёзным превентивным вмешательством в отношении аденокарциномы эндометрия, что согласуется с данными литературы [290].

Наиболее распространёнными сопутствующими миоме матки и гиперпластическим процессам эндометрия гинекологическими заболеваниями у женщин позднего репродуктивного и перименопаузального возраста в представленном исследовании оказываются доброкачественные и фоновые заболевания шейки матки (72%), хронические воспалительные процессы в придатках матки и функциональные кисты (40%). Эндометриоз встречается с частотой 14%. Согласно данным литературы при симптомном течении миомы матки частота кист яичника достигает 8% [269], гистологически верифицированного эндометриоза – 87% [409]. В представленном исследовании тяжёлые формы наружного генитального эндометриоза (ASRM > III) относятся

к критериям исключения. Частое сочетание миомы матки, гиперпластических процессов эндометрия, кист яичников и эндометриоза подчёркивает общность патогенеза развития заболеваний, вследствие гиперэстрогенного состояния.

Таким образом, результаты собственного исследования и литературные данные показывают, что ведущими причинами обращения за медицинской помощью являются нарушения менструального цикла в виде АМК и болевой симптом, вероятность появления которых связана с возрастом. Темпы роста миоматозных узлов увеличиваются в период менопаузального перехода. В указанный возрастной интервал женщины характеризуются не только высокой частотой симптомных миомы матки и гиперпластических процессов эндометрия, но и другой сопутствующей гинекологической и соматической патологией. Выраженная интенсивность болей и анемизирующие кровотечения при опухолях миометрия и гиперплазии эндометрия значительно нарушают качество жизни, вследствие чего являются ведущими показаниями для радикальной операции на матке, позволяющей наиболее эффективно ликвидировать симптомы заболевания и снизить риск прогрессирования патологии матки. Последствия оперативного лечения (воздействие на репродуктивное здоровье), вероятно, вторичны, и принимаются в расчёт в меньшей степени.

Овариальный резерв при радикальных операциях на матке и маточных трубах. Проведённое нами исследование демонстрирует возрастное снижение функции яичников у пациенток позднего репродуктивного и перименопаузального возраста: установлены корреляции: положительная между возрастом и ФСГ ($r_p=0,403$; $p=0,004$), отрицательные – возрастом и ингибином В ($r_p= -0,414$; $p=0,003$), КАФ ($r_p= -0,357$; $p=0,020$). Ограничение ОР, предшествующее ГЭ, проявляется высокими значениями гонадотропинов (ФСГ 17,4 мЕд/мл и ЛГ 15,4 мЕд/мл), низкими E_2 (69 пмоль/л), ингибина В (42 пг/мл), $V_{я}$ (7,5 см³), КАФ (4,0). До оперативного лечения возраст является ключевым фактором снижения функции яичников, так как зависимости между частотой основных заболеваний – миомой матки и гиперплазией эндометрия (показаний к

радикальной операции на матке) и гормональными показателями ОР не установлено ($p_{\chi^2} \geq 0,053$), а в анамнезе отмечается сохранная фертильность.

Удаление матки приводит к существенному ограничению ОР. Отмечается повышение гонадотропинов на 30-40% ($p_{\text{Вилкоксона}} < 0,001$), снижение E_2 на 30% ($p_{\text{Вилкоксона}} = 0,050$) и ингибина В на 50% ($p_{\text{Вилкоксона}} < 0,001$). Наиболее значительно изменяются ультразвуковые параметры ОР. $V_{\text{я}}$ и КАФ уменьшаются в среднем в 3 раза уже через 3 месяца после операции ($p_{\text{Вилкоксона}} \leq 0,006$). Однако только в группе пациенток с оппортунистическим удалением маточных труб снижение КАФ значимое ($p_{\text{Вилкоксона}} = 0,027$). Вклад ГЭ оказывает более скоротечное негативное влияние на функцию яичников, чем возраст. Угнетение гонад после операции настолько выражено, что возраст уже не связан с показателями ОР: ингибином В ($r_p = -0,276$; $p = 0,052$), КАФ ($r_p = -0,189$; $p = 0,285$).

Анализ литературы по ключевым наукометрическим базам данных PubMed Medline, Cochrane Library за последние 10 лет демонстрирует отсутствие влияния радикальной операции на матке только в нескольких работах [336, 461]. При сопоставлении с собственными данными во многих работах установлен ряд методологических проблем. Так, например, I.A. Abdelazim et al. (2015) оценивают эффект удаления матки на ОР у женщин позднего репродуктивного возраста [336]. Исследователям не удалось выявить существенных изменений АМГ, ФСГ и E_2 в течение 6-12 месяцев после операции. При этом авторы не интерпретируют увеличение $V_{\text{я}}$ в своей работе. С одной стороны, критерий не может являться надёжным маркёром нормальной функции яичников [168], с другой увеличение $V_{\text{я}}$, вероятно, обусловлено наличием в них кист у некоторых пациенток, что уже указывает на начальные этапы формирования ОН. В исследовании, проведённом нами, наоборот, $V_{\text{я}}$ является наиболее чувствительным маркёром угнетения гонад. Кроме того, возраст пациенток, включённых в исследование оказывается существенно более ранним, чем естественный менопаузальный. Учитывая данную работу собственное исследование демонстрирует, что эффекты ГЭ на функцию яичников более

выражены при исходном возрастном угнетении гонад, а также в краткосрочной после операции перспективе.

В других исследованиях авторы приходят к выводу об отсутствии влияния ГЭ на функцию яичников в связи с незначимой разницей в значениях маркёров ОР до и после операции [97, 402, 438]. Тем не менее исследователями показано снижение АМГ на 15-20% после ГЭ по сравнению с исходным [97, 402], на 30% по сравнению с контролем [438]. Работы характеризуются малыми объёмами выборок (15-30 человек) и большими пределами стандартной ошибки, что, вероятно, лежит в основе незначимого результата.

Все остальные исследования в реферируемых базах данных демонстрируют снижение функции яичников как в краткосрочной, так и в долгосрочной перспективе, выводы в целом согласуются с диссертационной работой. Наиболее крупное исследование проведено P.G. Moorman et al. (2011) [145]. Работа включает жёсткий критерий ПОН (определяемый как ФСГ > 40 Ме/л) и длительность наблюдения 5 лет. На репрезентативном материале (n=871) авторы устанавливают частоту угасания функции яичников после ГЭ (15%), в 3 раза превышающую таковую в контроле (5%). К ключевым методологическим проблемам можно отнести историю овариоэктомии у многих пациенток, а также предрасположенность к ПОН. Пациенты с ГЭ чаще имеют не только миому матки, но также СЭ и МЭ, вопрос об изолированном влиянии которых на гонады окончательно не установлен и подчёркивает гетерогенность включённых в исследование групп. Результаты проведённого нами исследования показывают, что если функция яичников и нарушается при миоме матки и гиперплазии эндометрия (до операции), то вклад данных заболеваний значительно ниже возрастного ограничения ОР в период перименопаузы.

В целом, анализ собственных и литературных данных показывает, что степень выраженности нарушений функции яичников после удаления матки может зависеть от а) оперативного доступа (эндоскопический vs лапаротомический vs вагинальный) [69, 97], б) дополнительного объёма вмешательства (тотальная vs субтотальная, ± СЭ и др.) [106, 461], в) техники

операции [165], г) исходного типа кровоснабжения яичников (маточная vs яичниковая артерия), д) возраста, в котором проведена операция (молодой vs поздний репродуктивный vs пременопаузальный) [145, 246], е) длительности наблюдения и времени исследования маркёров ОР после операции [145, 430]).

В соответствии с целью и задачами настоящей работы для оценки значимости повреждения гонад после оппортунистической СЭ представлены и обобщены результаты исследования. Большинство гормональных и ультразвуковых параметров ОР оказывается аналогичным у пациенток с планируемой ГЭ без придатков и дополнительной СЭ ($p_{\text{Манна-Уитни}} \geq 0,142$). Исходная однородность групп даёт возможность адекватно интерпретировать вклад оппортунистического удаления маточных труб в функцию яичников. После проведённого оперативного вмешательства все изучаемые параметры ОР демонстрируют сопоставимые значения в группах ГЭ без придатков и дополнительной СЭ: ФСГ ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,362$), ЛГ ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,067$), E_2 ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,617$), ингибина В ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,161$), V_y ($p_{\text{Манна-Уитни}} \geq 0,453$), КАФ ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,148$). Вклад оппортунистического удаления маточных труб в состояние функции яичников имеется, но является незначительным и нивелируется эффектами радикальной операции на матке.

Полученные в работе результаты согласуются с данными литературы. К масштабным не РКИ с длительным сроком наблюдения (12-48 месяцев) можно отнести работу Q.H. Yi et al. (2012) [166]. На репрезентативном материале ($n=859$) авторами показаны значимо более высокие значения гонадотропинов после ГЭ с маточными трубами по сравнению с таковым при ГЭ без придатков: ЛГ через 3 ($13,9 \pm 2,2$ Ед/л vs $12,6 \pm 2,5$ Ед/л, $p=0,032$) и 12 ($24,1 \pm 3,0$ Ед/л vs $22,5 \pm 1,8$ Ед/л, $p=0,017$) месяцев, ФСГ через 6 ($17,6 \pm 2,2$ Ед/л vs $16,2 \pm 2,8$ Ед/л, $p=0,035$) и 12 ($26,7 \pm 5,0$ Ед/л vs $24,3 \pm 3,1$, $p=0,031$) месяцев. Однако уже через 2 года значения гонадотропинов в группах оказываются идентичными ($p > 0,05$), через 4 года – почти идентичными, разница обнаруживается только для ФСГ ($34,9 \pm 6,7$ Ед/л vs $38,0 \pm 4,8$ Ед/л, $p=0,043$), абсолютные значения которого, вероятно, уже не имеют решающего значения для СЭ, так как в обеих группах

свидетельствуют о наступлении менопаузы. Концентрация E_2 через 1 год (97 ± 22 пмоль/л) после удаления матки с маточными трубами оказывается значимо более низкой, чем таковая уже через 2 года после операции (109 ± 17 пмоль/л, $p=0,028$), то есть эффект операции нивелируется возрастным критерием. Несмотря на явное увеличение гонадотропинов в обеих группах, анализа «до-после» операции не представлено, но данные согласуются с настоящим исследованием.

Дальнейшие РКИ в целом также подтверждают полученные собственные результаты. A.D. Findley et al. (2013) показана статистически незначимая тенденция к снижению значений АМГ после СЭ, выполненной в дополнение к ГЭ: от 2,26 нг/мл (до операции) до 1,03 нг/мл (через 1,5 месяца) и 1,86 нг/мл (через 3 месяца) после вмешательства [402]. Корейским многоцентровым исследованием показано, что после лапароскопической ГЭ концентрация АМГ значительно снижается ($p < 0,01$): при оппортунистической СЭ на 12,5% vs 10,8% в группе без удаления маточных труб, однако через 3 месяца между исследуемыми группами обнаруживаются незначимые ($p=0,898$) различия [239]. Из отечественных исследований знаковой работой можно считать одноцентровое РКИ, проведённое А.А. Поповым и соавт. (2015) [5]. По мнению авторов, профилактическая СЭ безопасна в отношении функции яичников: не выявлено значимой разницы в значениях АМГ ($p=0,639$), ФСГ ($p=0,741$), ЛГ ($p=0,768$), E_2 ($p=0,735$), Тес ($p=0,951$), $V_{я}$ ($p \geq 0,124$) между группами оппортунистической СЭ и ГЭ.

Таким образом, анализ собственных данных и литературы показывает, что возраст оказывает негативное влияние на функциональное состояние гонад, ГЭ в краткосрочной и долгосрочной перспективе критически угнетает функцию яичников. Последствия дефицита эстрогенов для репродуктивного здоровья женщин после оппортунистической СЭ минимальны, вероятно, не могут превышать пользу от профилактики воспалительных заболеваний ОМТ и онкопатологии яичников. При соблюдении принципа функциональной хирургии, максимально бережном отношении к гонадам удаление маточных труб с профилактической целью (при высоком риске серозного рака яичников) и

хроническом сальпингите во время ГЭ должно выполняться всем пациенткам в перименопаузальном возрасте.

Климактерические расстройства при радикальных операциях на матке и маточных трубах. Следует отметить, что в большинстве недавних работ, представленных выше, ключевым маркёром оценки функции яичников после радикальных операций на матке и маточных трубах выступает АМГ. Некоторыми авторами показано, что данный фактор оценки ОР может использоваться в качестве предиктора возраста менопаузы [55, 303]. Однако, согласно современным клиническим рекомендациям Национального института здравоохранения и клинического мастерства Великобритании (NICE Guideline № 23, параграф 1.2.3) исследование АМГ для диагностики менопаузы у женщин старше 45 лет не должно проводиться, так как критерий является ненадёжным маркёром яичникового старения [168]. По мнению N.A. Morin (2016) оценка АМГ при ГЭ лишена клинического смысла, так как гормон может вырабатываться и эндометрием [307]. В настоящей работе оценка АМГ у пациенток с ГЭ по указанным выше причинам не проведена.

Опираясь на рекомендации NICE и этапы старения репродуктивной системы (STRAW +10) принципиальным критерием оценки функции яичников является состояние менструальной функции. О менопаузальном переходе свидетельствуют различные колебания продолжительности менструального цикла, длительность менструального кровотечения более 7 дней, а также наличие вазомоторных симптомов [168]. У женщины, которая подвергается ГЭ или абляции эндометрия, стадия репродуктивного старения не может быть поставлена на основе параметров менструации [128]. Репродуктивный период у этих пациенток можно оценить только с помощью вспомогательных критериев. Так как лабораторные и ультразвуковые биомаркёры старения яичников, такие как АМГ, ингибин В, E_2 , КАФ и V_y надёжно можно определять только в репродуктивном возрасте, единственным доступным критерием оценки функции яичников в период перименопаузы выступает ФСГ. Учитывая новые данные о возможности транзиторного повышения гормона после операций на ОМТ [111,

285, 339, 461] исследование маркера целесообразно проводить по крайней мере через 3 месяца после вмешательства [168]. Однократное измерение ФСГ и E₂ также не рекомендуется, так как может дать неоднозначный или неправильно интерпретируемый результат.

В настоящем исследовании учтены предыдущий опыт работ и предложенные рекомендации. Анализ репродуктивного здоровья, главным образом, проведён по характеру менструальной функции (до операции), значениям ФСГ, клиническим проявлением климактерического / постгистерэктомического синдрома. Гормональный маркер определён до и после операции, период между хирургическим вмешательством и исследованием гормона составляет 3 месяца. Отличительной особенностью представленного исследования является оценка клинических симптомов менопаузы после оппортунистической СЭ. Данных об эстрогендефицитном состоянии после ГЭ в литературе достаточно. При поиске работ в реферируемых базах данных найдено всего одно исследование, где сделан акцент на симптомы дефицита эстрогенов после удаления маточных труб во время ГЭ. Исследование уже представлялось выше. Q.H. Yi et al. (2012) показывают более высокую частоту менопаузальных симптомов через 12 месяцев после симультанной СЭ по сравнению с таковой при изолированной ГЭ (21,8% vs 15,9%, p=0,026), и обратные значения долей через 24 месяца (47,1% vs 54,4%, p=0,036) [166]. Несмотря на неоднозначный результат сравнения анализа «до-после» операции не представлено. Кроме того, работа не является РКИ.

Настоящим исследованием показано, что до операции климактерический синдром выявляется почти у каждой второй пациентки (52%; 95% ДИ: 39-65%). Среди нейро-вегетативных симптомов наиболее часто женщины предъявляют жалобы на головные боли, повышение артериального давления, онемение и парестезии, сухость кожи, отёчность лица и век, нарушение сна; обменно-эндокринных – ожирение, гиперплазию молочных желёз, мышечно-суставные боли; психоэмоциональных – утомляемость, снижение памяти, раздражительность и изменение либидо.

После удаления матки постгистерэктомический синдром встречается уже в 68% (95% ДИ: 54-79%; $p_{\text{Мак-Нимара}}=0,039$) случаев, увеличивается степень тяжести каждой группы симптомов: нейровегетативных ($p_{\text{Вилкоксона}}=0,006$), обменно-эндокринных ($p_{\text{Вилкоксона}}=0,014$), психоэмоциональных ($p_{\text{Вилкоксона}}=0,014$). При изолированном удалении матки частота постгистерэктомического синдрома аналогична таковой до операции ($p_{\text{Вилкоксона}}=0,202$). Большой вклад в увеличение частоты климактерических проявлений вносит группа пациенток с оппортунистической СЭ ($p_{\text{Вилкоксона}}=0,005$), главным образом за счёт доли нейровегетативных симптомов ($p_{\text{Вилкоксона}}=0,014$). Установлена линейная ($p_{\chi^2_{\text{для тренда}}}\leq 0,007$) положительная ($p_{\text{Гудмена-Краскела}}\leq 0,012$) взаимосвязь между СЭ и степенью тяжести нейровегетативных ($p_{\Lambda\chi^2}\leq 0,002$) и психоэмоциональных ($p_{\Lambda\chi^2}=0,002$) симптомов. Вместе с тем, к данному заключению нужно относиться с осторожностью, так как до операции частота климактерического синдрома в группе пациенток с дополнительно проведённой СЭ оказывается выше таковой при изолированной ГЭ ($p_{\Lambda\chi^2}=0,004$). Кроме того, после удаления матки без придатков значимо увеличивается степень тяжести не только нейровегетативных ($p_{\text{Вилкоксона}}=0,049$), но и обменно-эндокринных ($p_{\text{Вилкоксона}}=0,046$), психоэмоциональных ($p_{\text{Вилкоксона}}=0,018$) проявлений, хотя и в меньшей степени.

В целом результаты работы демонстрируют, что оппортунистическое удаление маточных труб не оказывает выраженного дополнительного гормонального и клинического эффекта на функцию гонад. Данные исследований опросов мнения докторов о профилактической СЭ в США [202], Австралии [330] и России [25] показывают, что большинство специалистов позитивно относятся к проведению данного вмешательства.

Анализ клинико-anamнестических характеристик пациенток с трубным и эндокринным бесплодием. Второй частью клинического исследования является ретроспективный анализ историй болезни 200 пациенток после ВРТ по поводу двух факторов infertility: трубного (основная группа) и эндокринного (группа сравнения). В соответствии с целью и задачами исследования женщины с патологией маточных труб дополнительно разделены в зависимости от наличия

билатеральной СЭ в анамнезе, а также согласно возрастному критерию. Исследованы клинико-анамнестические характеристики пациенток, состояние ОР, основные параметры стимуляции яичников (включая эмбриологический этап), проанализированы исходы ВРТ. Работа включала четыре принципиальных группы сравнений: 1) СЭ (окклюзия, эндокринное бесплодие) vs контроль (до 35 лет), 2) СЭ vs окклюзия vs эндокринное бесплодие (без учёта возраста), 3) молодой vs поздний репродуктивный возраст (без учёта причины бесплодия), 4) трубное vs эндокринное бесплодие (в каждой возрастной подгруппе).

Многочисленные и сложные функции маточных труб наиболее часто нарушаются воспалительными заболеваниями [136]. Трубная окклюзия составляет 42% всех причин женского бесплодия и является самым распространённым осложнением воспалительных заболеваний ОМТ [100]. Инфекция тазовых органов и ответ на неё являются серьёзными проблемами для общественного здравоохранения из-за негативного воздействия на женскую репродуктивную систему [350]. Реконструктивно-пластические операции на маточных трубах являются традиционными методами восстановления фертильности при трубном бесплодии [212]. В настоящее время ВРТ исключают участие этого органа в репродуктивном процессе [218]. Этим обусловлено отсутствие интереса к патологии маточных труб, о чём свидетельствует малое количество доказательств влияния трубного фактора на репродуктивное здоровье и исходы ЭКО по сравнению с эндометриальным фактором [388].

Проведённое сравнительное клинико-лабораторное исследование позволило не только установить вклад билатеральной СЭ в функцию яичников и результативность ЭКО, но также сформулировать определённый «фенотип» пациенток с инфертильностью, в том числе при трубном факторе. Чаще это замужняя полная женщина, желающая заниматься вопросами деторождения после реализации карьерного роста.

Возраст всех пациенток с бесплодием в настоящей работе приближается к отметке в 35 лет (Me=33; 29-36 лет), когда не только снижается естественная фертильность [88, 459], но и уменьшается эффективность ВРТ [62]. Возраст, в

котором пациентки обращаются за медицинской помощью с целью реализации программы ВРТ, не зависит от фактора бесплодия: трубное и эндокринное (собственные данные, $p_{ANOVA} \geq 0,388$). Что, вероятно, подтверждает общую тенденцию отсроченного деторождения у современных женщин [125, 489].

Бесплодие чаще установлено у лиц умственного труда, почти половина (45%) пациенток оказываются служащими. По мнению В.Е. Радзинского (2015) современных женщин характеризует высокий уровень стрессовых воздействий [20]. Вместо опасностей для физического выживания (тяжёлая работа, голод, неблагоприятные условия жизни) жительницы мегаполиса подвержены ежедневным интеллектуальным и эмоциональным нагрузкам, сказывающимся на состоянии здоровья даже значимее, чем интенсивность. Общее состояние здоровья, жизнеспособность, социальное функционирование и психическое здоровье работающих пациенток с бесплодием значительно хуже таковых у неработающих, и тем более у фертильных женщин аналогичного возраста [398].

Анализ менструальной функции в настоящем исследовании демонстрирует, что большинство пациенток с трубным бесплодием имеют нормальные менструальные параметры в соответствии с рекомендациями FIGO (2009) [442]. Частота менструаций 24-38 дней отмечается у 96% (95% ДИ: 91-98%; Me=28; 28-30 дней), длительность менструального кровотечения 4,5-8 дней у 63% женщин (95% ДИ: 55-71%; Me=5; 4-5 дней). Своевременное менархе установлено у 82% пациенток (95% ДИ: 74-88%; Me=13; 12-14 лет), отсутствие нарушений менструального цикла у 70% женщин (95% ДИ: 61-77%). При трубном бесплодии АМК (16%, 95% ДИ: 11-24%) и дисменорея (24%, 95% ДИ: 18-32%) встречаются с одинаковой частотой.

Возраст наступления менархе является знаковым событием в достижении половой зрелости у девочек, происходящим после интенсивных физических и метаболических изменений [241]. Раннее менархе, установленное в исследовании у 15% (95% ДИ: 10-22%) пациенток с трубным бесплодием, является отражением общей тенденции снижения возраста достижения половой зрелости, так как соответствует таковому в популяции [44]. Позднее менархе,

констатированное у небольшого числа лиц – 3% (95% ДИ: 1-8%), может быть дополнительным фактором риска бесплодия. J. Chen et al. (2015) выявили почти линейную взаимосвязь между возрастом менархе и распространённостью бесплодия [449].

Согласно данным А.М. Burnett, С.Р. Anderson, М.Д. Zwank (2012) при воспалительном процессе в ОМТ АМК отмечаются в 14% случаев [92]. Нарушения менструального цикла не являются специфическими симптомами хронического воспалительного процесса в ОМТ [301]. В то же время, АМК могут быть результатом гиперстимуляции эндометрия на фоне относительной гиперэстрогении в результате избыточного количества внутрифолликулярного E_2 [171]. Ниже приведённые собственные результаты демонстрируют относительную гиперэстрогению у пациенток после СЭ, что рассматривается в качестве начальных проявлений ОН.

Воспаление придатков матки является значимым фактором риска дисменореи (ОШ 2,84; 95% ДИ 1,1-7,5), частота которой составляет 36% при наличии ≥ 2 эпизодов инфекции [356], соответствует таковой в настоящем исследовании. В структуре причин болезненных менструаций воспаление придатков матки находится на 3-м месте, часто сопровождается другими нарушениями менструального цикла [235]. В представленной работе при трубном бесплодии в 1/3 случаев дисменореи сопутствуют АМК или олигоменорея.

Олигоменорея в настоящем исследовании выявлена только у 6% (95% ДИ: 3-12%) женщин с трубной инфертильностью. Наличие тенденции к увеличению продолжительности менструального цикла может являться проявлением относительного гипергонадотропного состояния в репродуктивном периоде, даже при наличии жизнеспособных ооцитов, о чём свидетельствуют собственные экспериментальные данные. Дальнейшие исследования демонстрируют повышение концентрации ФСГ при бесплодии вне зависимости от его причины, наиболее значимое после радикальных операций на маточных трубах. Вне зависимости от возрастного критерия, все остальные параметры

менструального цикла при трубном и эндокринном бесплодии оказываются сопоставимыми ($p \geq 0,096$).

Возраст начала половой жизни (15-25 лет) при различных вариантах бесплодия является одинаковым вне зависимости от его причины (собственные данные, $p_{\text{Краскела-Уоллиса}} \geq 0,059$). Вероятно, раннее начало половой жизни в группе пациенток с трубным бесплодием не оказывается единственным или значимым фактором риска воспалительных заболеваний придатков матки, как причины бесплодия. В подтверждение вышесказанному, эффективные методы контрацепции используют ранее 43% (95% ДИ: 36-49%) женщин, а барьерные средства, как существенные профилактические меры против инфекций, передающихся половым путём [126], только 17% (95% ДИ: 12-22%) пациенток.

Большая доля женщин – 58% (95% ДИ: 51-64%) выбирает либо естественные методы предупреждения нежелательной беременности, либо сообщает об отсутствии применения контрацептивов. Согласно обзору В.А. Smoley & С.М. Robinson (2012) использование естественных методов планирования семьи в течение 1 года может приводить к нежелательной беременности у 25% пациенток [406]. Соответственно, более чем у половины женщин в настоящей работе клиническому диагнозу «бесплодие» могла предшествовать субфертильность, а реальная длительность заболевания оказываться намного большей.

Собственные данные анализа репродуктивной функции показывают, что беременность в анамнезе имеют 50% (95% ДИ: 50-64%) женщин, из них после ЭКО – 5% (95% ДИ: 3-9%) пациенток. При этом отмечается крайне низкая реализация детородной функции: только у 36 % (95% ДИ: 28-45%), из ранее имевших беременность. Спонтанные аборт встречаются у 24% (95% ДИ: 18-30%) женщин, привычная потеря беременности у 4% (95% ДИ: 2-8%) пациенток. Различий в реализации репродуктивной функции, частоте прерывания беременности при различных причинах бесплодия не установлено ($p_{\chi^2} \geq 0,322$).

Согласно данным J. Orlando & С. Coulam (2014) только в 32% случаев невынашивание ассоциировано с повышенной способностью к зачатию [331].

Прерывание беременности может приводить к развитию хронического эндометрита [98], частота которого и без того высока при воспалительных заболеваниях малого таза [318], а кюретаж полости матки являться независимой причиной формирования трубной патологии [63]. Соответственно, собственные данные о репродуктивном анамнезе констатируют, что одной из ключевых причин трубного бесплодия является большая доля прерывания беременности.

Учитывая высокую частоту отсутствия живорождения в анамнезе в представленном исследовании первичное бесплодие (80%, 95% ДИ: 73-85%) в четыре раза чаще встречается, чем вторичное (20%, 95% ДИ: 15-27%). В настоящей работе для дифференциальной диагностики обоих вариантов нарушения репродуктивной функции использовались рекомендации ВОЗ [312]. Популяционное общемировое соотношение частоты первичного и вторичного бесплодия среди всех женщин 20-44 лет находятся в обратной зависимости (1,9% vs 11,7%) [312]. Собственные данные показывают, что доля обоих вариантов инфертильности не зависит от его причины ($p_{\chi^2}=0,354$), но определяется возрастом. Закономерно чаще первичное бесплодие встречается в молодом репродуктивном возрасте – 97% (95% ДИ: 90-99%) при только 60% (95% ДИ: 47-71%) в позднем. Опыт предыдущих ВРТ имеют 20% (95% ДИ: 15-27%) пациенток как при трубном, так и при эндокринном бесплодии ($p_{\chi^2}=0,728$). Среднее количество попыток ВРТ составляет 2,1 раза.

Эффективность ВРТ у женщин моложе 35 лет заканчивается живорождением только в 40% случаев (за один цикл), в возрасте старше 42 лет этот показатель не превышает 5% [226]. Согласно данным V.A. Moragianni & A.S. Penzias (2010) почти половина супружеских пар, которые начинают прибегать к ВРТ, останутся бездетными, даже если они проходят несколько циклов ЭКО [306]. С точки зрения исходов ВРТ трубный фактор бесплодия может являться благоприятным, так как не связан с качеством овоцитов. В то же время инфекционно-воспалительный процесс в маточных трубах сопряжён не только с повышенным шансом имплантационных потерь, но и значительно увеличивает перинатальные риски в случае клинической беременности [463].

Частота попыток ЭКО более 2 раз в настоящем исследовании свидетельствует о низкой эффективности и стойком нарушении репродуктивного здоровья.

Средняя продолжительность бесплодия в представленной работе приближается к 7 годам (от 1 до 20 лет), в молодом репродуктивном возрасте имеет зависимость от причины бесплодия ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,032$), в позднем репродуктивном – закономерную тенденцию к увеличению ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,057$).

Наиболее длительное бесплодие отмечается при трубной окклюзии ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,011$). Вероятно, при непроходимости маточных труб пациентки долго не обращаются за специализированной медицинской помощью, оставляя шанс на спонтанную беременность или длительно получают неэффективное лечение. СЭ, как причина абсолютного бесплодия, наоборот, «вынуждает» прибегнуть к методам ЭКО раньше. По мнению некоторых пациентов, бесплодие не является болезнью, так как не сопряжено с рисками, опасными для жизни, а выбор терапии супружескими парами часто рассматривается через призму затрат на процедуру, часто падает на менее дорогостоящие и недостаточно эффективные [295]. Функциональная хирургия маточных труб остаётся необходимым репродуктивным выбором для семейной пары с этическими, религиозными или финансовыми проблемами, связанными с процессом искусственного оплодотворения. Реконструктивно-пластические операции на маточных трубах не в состоянии полностью восстановить их анатомо-функциональное состояние. Согласно обзору D. Lee & P. Patton (2016) эффективность методов функциональной хирургии в достижении беременности составляет: при неосальпингостомии 0-40%, фимбриопластике 25-60%, реанастомозировании после хирургической стерилизации – 30-90% [275]. Выжидательная тактика также крайне неперспективна, так как вероятность спонтанной беременности составляет всего 1% [33], а при трубной окклюзии ещё и снижается с увеличением длительности бесплодия [63].

Одним из ключевых параметров оценки исходной однородности групп с трубным и эндокринным бесплодием в настоящей работе является ИМТ, косвенно определяющий репродуктивные способности. Ожирение оказывает

отрицательное воздействие на естественную плодовитость, включая субфертильность (увеличение времени до зачатия) и бесплодие в связи с олиго- или ановуляцией [238]. Для пациенток с СПКЯ ожирение ассоциировано со значительно более высоким риском выкидыша и низким уровнем клинической беременности [237]. По мнению X. Zeng et al. (2013) ИМТ не оказывает существенного влияния на исходы ВРТ при отсутствии ановуляции [238]. Наиболее крупное ($n=896839$) когортное исследование, проведённое в США J.F. Kawwass et al. (2016), показывает, что тучные женщины вне зависимости от причины бесплодия имеют статистически сниженную вероятность маточной беременности (ОР 0,94; 95% ДИ: 0,94-0,95) и живорождения (ОР 0,87; 95% ДИ: 0,86-0,88). Риски оказываются высокими и при недостаточной массе тела [172]. В диссертационном исследовании установлено, что 44% (95% ДИ: 37-51%) пациентов характеризуются избытком массы тела и ожирением, что не имеет зависимости от фактора инфертильности ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} \geq 0,112$).

В представленной работе бесплодие сопровождается высокой распространённостью как гинекологической (100%; 95% ДИ: 98-100%), так и экстрагенитальной (58%; 95% ДИ: 51-64%) патологии у пациенток с трубным и эндокринным фактором инфертильности, частота которых одинакова в группах ($p_{\chi^2} \geq 0,232$). По мнению K. McKnight & L.J. McKenzie (2016) при бесплодии необходима не только оценка менструальной и генеративной функции, а также тщательный сбор анамнеза в отношении соматических заболеваний [295]. Хронические болезни обуславливают нарушение овуляторной функции через центральные механизмы дисрегуляции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси. При этом лечение соматических заболеваний нередко паллиативное и не приводит к восстановлению фертильности [295]. В настоящей работе установлена линейная положительная взаимосвязь между возрастом и наличием экстрагенитальной ($p_{\chi^2} < 0,001$), гинекологической ($p_{\chi^2} = 0,001$) патологией.

По мнению K.A. Green, S.M. Zarek, W.H. Catherino (2015) микробиом женского полового тракта является одной из ключевых составляющих репродуктивного здоровья, его нарушения служат отправной точкой для

развития многих гинекологических заболеваний [216]. В настоящем исследовании хронический сальпингит встречается у всех (100%, 95% ДИ: 97-100%) пациенток с трубным и у каждой третьей (33%, 95% ДИ: 24-45%) женщины с эндокринным бесплодием. Инфекции, передающиеся половым путём, установлены в 38% (95% ДИ: 30-46%) и 14% (95% ДИ: 8-24%) случаев, соответственно, чаще в группе пациенток с СЭ ($p_{\chi^2}=0,001$). Воспалительные изменения в придатках матки обуславливают патологическую афферентацию – постоянный поток нервных импульсов, поступающих в центральную нервную систему, регулирующую подконтрольную её гипоталамо-гипофизарно-яичниковую ось, что в дальнейшем приводит к снижению активности иммунной системы и эндокринной функции яичников (дефицит E_2 и прогестерона), нередко вторично нарушая процесс овуляции [8].

Доброкачественные пролиферативные заболевания репродуктивных органов в анамнезе в представленной работе имеют 50% (95% ДИ: 41-59%) женщин с трубным бесплодием. Эндометриоз и миома матки являются распространёнными гинекологическими заболеваниями у женщин фертильного возраста, часто протекают бессимптомно [465], совместно с трубным фактором бесплодия являются главными анатомическими причинами инфертильности, невынашивания и других акушерских осложнений [41, 322]. Анализ собственных данных и литературы позволяет заключить, что причины инфертильности чаще сочетанные. При эндокринном бесплодии высока распространённость хронического сальпингита и инфекций, передаваемых половым путём (потенциальных факторов нарушения анатомо-функционального состояния маточных труб), а при трубном – воспалительный процесс также может приводить к хронической ановуляции. Доброкачественные пролиферативные заболевания репродуктивных органов, экстрагенитальная патология способствуют ограничению фертильности. Гипотеза о мультифакториальной природе бесплодия согласуется с данными литературы [41].

Таким образом, большинство клинико-анамнестических данных при различных причинах бесплодия сопоставимы в группах (возраст, показатели менструальной и репродуктивной функции, длительность бесплодия и ИМТ), что даёт возможность адекватной интерпретации полученных далее данных.

Овариальный резерв при трубном и эндокринном бесплодии. Основу репродуктивного потенциала женщины составляет ОР – функциональный запас яичников, определяющий их способность к формированию здорового фолликула с полноценным овоцитом, равно как и возможность адекватного ответа на стимуляцию гормонами в программах ВРТ [20]. В соответствии с целью и задачами исследования проведён сравнительный анализ показателей ОР при трубном и эндокринном бесплодии, оценено состояние гонад после СЭ. Для уточнения роли возрастного критерия проведены сравнения до и после 35 лет вне зависимости от фактора бесплодия и изолировано в каждой группе. Для установления влияния причины infertility (включая группу после СЭ) проанализированы результаты тестов многомерной статистики в каждой возрастной группе (до 35 лет ещё и с контролем, после 35 лет только между собой). При наличии статистической значимости дополнительно оценены *post hoc* сравнения.

В молодом репродуктивном возрасте при сравнении с контролем фактор бесплодия является причиной различий в концентрациях ФСГ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} < 0,001$), ЛГ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} = 0,005$), ингибина В ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} < 0,001$) и E_2 ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} = 0,022$). Однако апостериорные сравнения с контролем демонстрируют только увеличение ФСГ, как после СЭ ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,001$), так и при окклюзии маточных труб ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,005$), хронической ановуляции ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,002$). Соответственно, вне зависимости от фактора бесплодия у пациенток с infertility, вероятно, обнаруживается снижение функции яичников в виде увеличения ФСГ. Учитывая, что концентрации гонадотропинов и значения других изучаемых показателей ОР находятся в референтных пределах, повышение ФСГ относительное. Для реализации негативного эффекта

незначительного увеличения гормона в репродуктивную функцию недостаточно.

Собственные данные демонстрируют, что базальные значения ФСГ являются непрямым показателем размера когорты чувствительных к нему фолликулов: вне зависимости от фактора бесплодия и возраста установлены отрицательные корреляции между ФСГ и КАФ ($r_s = -0,303$, $p < 0,001$). С одной стороны, уровень гонадотропина прямо зависит от E_2 , синтезируемого эпителиоцитами гранулёзы антральных фолликулов на момент начала цикла (корреляция между ФСГ и E_2 , $r_s = -0,197$, $p = 0,007$), теоретически должен отражать объём активных гранулезных клеток, вероятно, качественных овоцитов (корреляция между ФСГ и МП, $r_s = -0,348$, $p < 0,001$). С другой – показатель оказывается зависимым от влияния других ауто- и паракринных факторов (ингибинов и активинов) [425]. В связи с чем, диагностическая и прогностическая значимость маркера низкая [423]. Импульсный характер выработки ФСГ приводит к выраженной вариабельности его значений от цикла к циклу, и даже в течение одних суток [249]. Широкие референтные значения базальной концентрации ФСГ (4-25 мЕД/мл) [351] не позволяют объективно опираться на данный показатель ОР. Нормальный уровень ФСГ, изолированно от других параметров не отражает сохранный ОР, скрывает как низкий, так и высокий запас антральных фолликулов. Овариальное старение начинается за несколько лет до подъёма гормона [260], поэтому маркер оказывается информативен только в крайне высоких пороговых значениях [40]. В настоящем исследовании несмотря на повышение ФСГ, маркер остаётся в пределах референтных значений. По мнению D.J. Hendriks et al. (2005) прогностически неблагоприятным с точки зрения состояния функции яичников и ответа на стимуляцию является значение ФСГ выше 10 мЕД/мл [59]. Однако, гормон не обладает прогностической способностью в отношении наступления беременности в протоколах ВРТ [351]. Фактический удел исследования маркера – дополнительная доказательная база компенсаторной гипергонадотропинемии, как очевидного и аргументированного фактора прогноза безуспешности

проводимого лечения бесплодия при снижении функции яичников. Согласно собственным данным относительное увеличение ФСГ, вероятно, предшествует клинически выраженной ОН. Гонадотропин стимулирует быстрый рост фолликулов, что приводит к непродолжительному увеличению E_2 , укорочению фолликулярной фазы и менструального цикла, что согласуется с данными представленных ранее настоящих опытов и литературы в целом [425].

Концентрация E_2 является прямым оценочным тестом активности гранулезных клеток когорты антральных фолликулов, готовящихся к финальному этапу роста. Результаты представленного исследования демонстрируют также зависимость качества овоцитов (МШ) от концентрации полового стероида ($r_s=0,163$, $p=0,002$). Однако крупное ретроспективное исследование ($n=2634$), проведённое J.L. Frattarelli et al. (2000), показывает, что гипоэргическая реакция гонад в протоколах ВРТ отмечается не только при снижении базальной концентрации E_2 (< 20 пг/мл), но и при её увеличении (> 80 пг/мл) [164]. По мнению ASRM (2015) значение полового гормона, превышающее 60-80 пг/мл в ранней фолликулярной фазе, может указывать на репродуктивное старение и ускоренное развитие овоцитов [425]. Аналогичные данные показаны в собственных опытах по удалению яйцеводов у крыс. Тем не менее, маркёр не обладает высокой прогностической значимостью для наступления беременности [164] и также не может использоваться изолированно в рутинной клинической практике [40]. В представленной работе при трубном (окклюзия) и эндокринном бесплодии не выявлено колебаний концентрации женских половых гормонов ($p_{\text{Манна-Уитни}} \geq 0,057$), а также изменений продолжительности менструального цикла. Благодаря центральной отрицательной обратной связи, высокий уровень E_2 может подавлять повышенную концентрацию ФСГ в пределах нормальных значений, поэтому уровень женского полового гормона в первую очередь позволяет правильно интерпретировать базальный уровень гонадотропина.

Другим маркёром овариального старения, используемым в работе, является ингибин В, концентрация которого в молодом репродуктивном

возрасте оказывается более низкой вне зависимости от причины бесплодия: после СЭ ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,001$), при окклюзии маточных труб ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,007$) и хронической ановуляции ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,006$). Однако, при трубном (окклюзия) и эндокринном бесплодии мощность тестов крайне низкая ($1-\beta \leq 6,0\%$), в связи с чем результаты не существенны. Ингибин В по механизму центральной отрицательной обратной связи контролирует секрецию ФСГ, что подтверждают собственные данные ($r_s = -0,293$, $p = 0,004$).

Учитывая то, что уменьшение гетеродимерного гликопротеина предшествует подъёму ФСГ [491], высказано предположение, что данный маркер оценки ОР является более надёжным. По мнению D.B. Seifer et al. (1997) при значениях ингибина В на 3-й день менструального цикла < 45 пг / мл отмечается «плохой» ответ на стимуляцию в протоколах ЭКО [117]. Однако другими работами было показано, что использование изолированного теста в качестве меры оценки состояния ОР и исхода ВРТ несостоятельное [37]. По аналогии с ФСГ, даже при очень низких пороговых значениях маркера (ингибин В) прогноз гипоэргической реакции гонад на стимуляцию более чем скромный, а рутинное применение не рекомендуется [37, 425].

Согласно настоящему исследованию в молодом репродуктивном возрасте при сравнении с контролем различных факторов бесплодия значимых изменений ультразвуковых параметров ОР ($V_{\text{я}}$ и КАФ) не выявлено ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} \geq 0,390$). Вне зависимости от причины бесплодия $V_{\text{я}}$ коррелирует с возрастом ($r_s = -0,204$, $p = 0,006$), согласно литературным данным может даже прогнозировать ответ на стимуляцию в протоколах ВРТ [59]. R.V. Higgins et al. (1990) показано, что $V_{\text{я}}$ является поздним событием в жизни женщины и начинает уменьшаться после 40-летнего возраста [250]. В целом, данный параметр практически не изменяется до перименопаузы и не добавляет прогностической ценности к КАФ [343, 466]. КАФ (2-10 мм в диаметре) в ранней фолликулярной фазе (2-5 день менструального цикла) является более чувствительным методом оценки ОР [466]. КАФ в каждом яичнике от 8 до 10 рассматривается как предсказатель нормального ответа яичников на стимуляцию [260], 3-6 – сопряжено с

гипоэргической [59], а более 14 – гиперэргической реакцией гонад [343]. В настоящей работе КАФ вне зависимости от причины бесплодия находится в обратно пропорциональной зависимости от возраста ($r_s = -0,269$, $p < 0,001$). КАФ имеет лучший дискриминационный потенциал для «бедного» ответа яичников по сравнению с их V, базальными концентрациями ФСГ, E₂, ингибина В и АМГ, но изолированному методу не хватает чувствительности и специфичности прогнозировать исход ЭКО [37, 288, 466].

В целом, согласно данным литературы, имеются противоречивые сведения относительно показателей ОР у женщин с бесплодием. Н.W. Hvidman et al. (2016) показано, что значения АМГ (11%; 95% ДИ -1; 24%) и КАФ (1%; 95% ДИ -7; 8%) у пациенток до 40 лет с инфертильностью аналогичны женщинам того же возраста без истории бесплодия [244]. N. Parveen et al. (2016) установлено, что чуть меньше половины женщин (42%) с бесплодием имеют более низкие показатели ОР (уменьшение АМГ) по сравнению с контрольной группой без инфертильности аналогичного возраста [347]. Однако абсолютные концентрации АМГ (1,9-2,1 нг/мл) в группах находятся в пределах референтных значений, что согласуется с собственными данными.

Разнополярные результаты исследований могут быть объяснены гетерогенностью женщин с бесплодием, а также отсутствием единого универсального диапазона интерпретации значений показателей ОР. С. Gnoth et al. (2008) низкий ОР определён как АМГ менее 1,26 нг / мл вне зависимости от возраста [380]. Т. Ebner et al. (2006) [77], К.Р. Tremellen et al. (2005) [52] считают, что снижение функции яичников отмечается только при АМГ <1,7 нг / мл и <0,8 нг / мл, соответственно. В настоящей работе при сравнении с контролем групп пациенток с различными факторами инфертильности в молодом репродуктивном возрасте значимых изменений концентрации АМГ не выявлено ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} = 0,139$). В целом однозначно утверждать, что при трубном и эндокринном бесплодии без истории операций на придатках матки в возрасте до 35 лет имеют место начальные признаки ограничения ОР нельзя (относительное повышение ФСГ).

Собственные данные в то же время показывают, что только после удаления маточных труб повышение ФСГ, снижение ингибина В и Е₂ являются аддитивным событием. После СЭ изменения ФСГ и ингибина В относительно контроля имеют наибольшую мощность тестов ($1-\beta=99,7\%$ и $100,0\%$, соответственно). После радикальной операции на маточных трубах частота значений ФСГ более 10 мЕд/мл, как гормонального предиктора ограничения ОР, встречается чаще (27%), чем в группе контроля (0%; $p_{\text{точный Фишера}}=0,046$). Концентрация Е₂ почти в два раза ниже значений контроля ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,001$). После СЭ частота значений АМГ менее 1,26 нг/мл (22%), как гормонального предиктора ограничения ОР, при сравнении с таковой у женщин без операции встречается значимо чаще (0%; $p_{\text{точный Фишера}}=0,044$). Аналогичные собственным результаты получены Т.А. Gelbaya et al. (2006) [339], К. Nakagawa et al. (2008) [273]. Авторы показывают значимо более высокие концентрации ФСГ и небольшое количество овоцитов, получаемых при пункции фолликулов после лапароскопической СЭ. Однако частота наступления беременности не зависит от проведения операции. Значимо более низкие концентрации АМГ у пациенток с бесплодием и перенесённой СЭ установлены А.Г. Grynnerup et al. (2013) [218], Х.Р. Ye et al. (2015) [496]. В обеих работах средние значения АМГ на 30% ниже таковых у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия без СЭ, однако, находятся в референтных значениях нормально функционирующих яичников. Этим, вероятно, обусловлена одинаковая частота беременности после ВРТ вне зависимости от проведения СЭ.

Таким образом, в молодом репродуктивном возрасте радикальная операция на маточных трубах вне зависимости от показания к ней ограничивает репродуктивный потенциал по сравнению с таковым у женщин фертильного возраста без истории бесплодия, а также более значимо, чем у пациенток с инфертильностью без операций на ОМТ той же возрастной группы.

Учитывая доказанное негативное влияние СЭ на ОР в возрастной группе до 35 лет в позднем репродуктивном возрасте сравнения с контролем не проведены, основной задачей является выявление эффектов операции на состояние яичников

в сравнительном аспекте (между различными вариантами бесплодия). Тестами многомерной статистики показано, что значимых изменений большинства показателей ОР вне зависимости от радикальной операции на матке не выявлено: АМГ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,307$), ФСГ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,655$), ЛГ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,308$), ингибин В ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,099$), $V_{\text{я}}$ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,064$), КАФ ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,732$). В связи с чем апостериорные сравнения теряли смысл.

Единственным маркёром, показавшим значимый результат, оказывается концентрация E_2 ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,001$). Однако, *post hoc* сравнения демонстрируют только тенденцию к более низким значениям гормона при трубном бесплодии в сравнении с группой «хроническая ановуляция» ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,026$). При этом негативный вклад радикальной операции на маточных трубах в функциональное состояние яичников нивелируется, вероятно, возрастным критерием, так как различия значений E_2 между группами «СЭ» и «окклюзия» уже не выявляются ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,018$, при критическом $p=0,017$).

Согласно настоящим результатам работы, тенденция к более низким значениям половых гормонов при трубном бесплодии может быть косвенно связана с причиной самого фактора infertility – воспалительным процессом в ОМТ. Более 60% всех вариантов трубно-перитонеального бесплодия обусловлено неспецифическим инфекциями [500]. L. Cui et al. (2016) в исследовании случай-контроль показано, что хронический воспалительный процесс в ОМТ негативно влияет на ОР [100]. Аналогичные собственным данные о морфофункциональном состоянии гонад получены также в экспериментальных работах по моделированию хронического монокультурального и асептического воспаления [3, 17]. Кроме того, овоциты РФ уязвимы для внешних воздействий, поэтому не только нарушение кровотока при хроническом воспалении оказывает влияние на состояние ОР, возможно чрезмерное повреждение ДНК [99, 245]. Доказанным механизмом истощения яичников также является дисрегуляция стероидогенеза [362].

Подтверждающим фактом более значимого влияния возраста на функцию яичников вне зависимости от причины бесплодия (в том числе нивелирование

эффектов СЭ) являются результаты дальнейших сравнений в настоящей работе. Показано, что вне зависимости от фактора infertility концентрация АМГ в позднем репродуктивном возрасте ниже таковой в молодом: на 60-65% при трубном бесплодии ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,047$), в 4,5 раза при хронической ановуляции ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,001$).

Собственные экспериментальные данные показывают, что АМГ синтезируется, главным образом, фолликулярными эпителиоцитами первичных и вторичных преантральных и малых антральных фолликулов. Клинические данные настоящего исследования указывают на то, что маркер косвенно может отражать истинный тотальный ОР, установлены корреляции между АМГ и КАФ, ($r_s = 0,432$, $p < 0,001$), а также АМГ и возрастом ($r_s = -0,384$, $p < 0,001$), что согласуется с данными литературы [49, 314]. Так как «малые» фолликулы секретируют гормон в гонадотропин-независимый период в отличие от других биохимических маркеров (ФСГ, ингибин В, E_2) АМГ может быть измерен в любой день менструального цикла [56].

АМГ является самым ранним маркером снижения функции яичников у женщин молодого возраста [396]. Для идентификации бедного ответа с чувствительностью 80-87% и специфичностью 64-93% используются пороговые значения АМГ 0,2-1,26 нг/мл [54]. Маркер также способен прогнозировать гиперэргическую реакцию гонад в протоколах ВРТ [49]. Собственные данные свидетельствуют о том, что с увеличением значений АМГ снижается доля зрелых половых клеток в протоколах ВРТ ($r_s = -0,254$, $p = 0,001$). Однако в целом считается, что маркер не может предсказать качество ооцитов. Молодые пациентки с низким уровнем АМГ могут иметь меньшее число ооцитов, но нормальное, соответствующее возрасту, их качество [458]. Последняя гипотеза косвенно подтверждается результатами настоящего исследования, маркер не имеет корреляции с долей оплодотворившихся клеток ($r_s = 0,059$, $p = 0,455$), а также количеством эмбрионов «top» качества ($r_s = 0,073$, $p = 0,359$). По мнению S.M. Nelson (2013) АМГ чрезвычайно перспективен в отношении оценки ОР до и после операций на яичниках у женщин с высоким риском недостаточности

гонад, так как представляет точный метод прогнозирования репродуктивной продолжительности жизни и времени наступления менопаузы [314]. Анализ собственных данных демонстрирует значимость исследования АМГ также после операции без прямого воздействия на гонады (СЭ). Полученные данные свидетельствуют в первую очередь о негативном влиянии возраста на репродуктивную функцию вне зависимости от причины бесплодия.

Концентрация E_2 при трубном факторе в возрасте до и после 35 лет в настоящей работе также различна. После радикальной операции на маточных трубах значения женского полового гормона выше в старшей возрастной группе ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,024$) и, наоборот, ниже при «окклюзии» ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,049$). То есть предполагается, что при трубном бесплодии СЭ в позднем репродуктивном возрасте влияет на функцию яичников в меньшей степени, чем невмешательство, в отличие от молодого репродуктивного возраста. В подтверждение вышесказанному, крайне низкие значения АМГ ($< 1,26$ нг/мл), как гормонального предиктора ограничения ОР, после радикальной операции на маточных трубах встречаются одинаково часто до и после 35 лет ($p_{\text{точный Фишера}}=0,431$), в отличие от таковых при трубной окклюзии и хронической ановуляции ($p_{\text{точный Фишера}} \leq 0,020$), где возраст в большей степени нарушает функцию гонад. Несмотря на значимое снижение V_y после СЭ в старшей возрастной группе ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,016$), это не приводит к уменьшению КАФ ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,066$). Более того, объём гонад даже после операции находится в референтных пределах нормально функционирующих яичников (Me значений превышает 12 см^3) а КАФ менее 10 (в обоих яичниках), как ещё одного предиктора ограничения их функции, в разных возрастных группах встречается одинаково часто ($p_{\text{точный Фишера}}=0,500$). Таким образом, с точки зрения влияния на ОР СЭ более выгодна в позднем репродуктивном возрасте.

Наиболее значимый систематический обзор, относящийся к оценке влияния радикальных операций на маточных трубах на репродуктивное здоровье, опубликован в журнале «Journal of Ovarian Research» 3 ноября 2016 года [388]. Авторами обозначены критические вопросы, заключающийся, в отсутствии

чётких рекомендаций по ведению пациенток с трубным бесплодием в зависимости от степени и уровня поражения маточных труб. Ключевыми факторами влияния СЭ на ОР названы техника операции (хирургия анастомоза яичниковой артерии и трубной ветви маточной артерии, использование электрогемостаза), а также объём вмешательства. Основной вывод исследователей базируется на том, что гетерогенность пациенток (объединение групп с уни- и билатеральной операцией) является причиной разнополярных результатов. Тем не менее, односторонняя СЭ признаётся безопасной процедурой: не имеет негативного влияния на ОР и ответ яичников в протоколах ВРТ. Для рекомендаций по выполнению двухсторонней операции перед ЭКО имеющихся в литературе данных недостаточно [388].

Согласно результатам собственного исследования, немаловажным фактором в оценке безопасности СЭ является не только объём операции, а также возраст, в котором она проводится, с точки зрения исходов ВРТ ещё и длительность между хирургическим вмешательством и вступлением в протокол ЭКО. Доказательство влияния двухсторонней радикальной операции на маточных трубах на ОР в возрастном аспекте представлено выше. Дальнейшие результаты оценивают параметры стимуляции и исходы ВРТ.

Индукцированный цикл и эмбриологический этап ВРТ при трубном и эндокринном бесплодии. До конечной цели – живорождение, результативность методов ВРТ определяется характером ответа яичников на введение индукторов овуляции: стартовой и курсовой дозами гонадотропинов, продолжительностью стимуляции, количеством РФ, качеством овоцитов и эмбрионов.

Для улучшения результатов и безопасности контролируемой стимуляции яичников в программах ВРТ должны использоваться особые требования, заключающиеся в первую очередь в чётких рекомендациях по дозировке ФСГ и выборе протокола [71]. В представленном исследовании всем пациенткам для стимуляции яичников использован протокол с антаГнРГ. Согласно последнему кохрановскому систематическому обзору, проведённому H.G. Al-Inany et al. (2016), существует умеренное качество доказательств того, что применение

антагонистов ГнРГ по сравнению с длинным протоколом с использованием агонистов ГнРГ связано с существенным сокращением СГЯ без снижения вероятности живорождения [213].

Классический выбор стартовой дозы ФСГ зависит от причины бесплодия, в расчёт принимаются возраст, ИМТ, значения АМГ, КАФ, а также ответная реакция яичников в предыдущих попытках стимуляции [40, 71, 263]. Современный подход к классификации чувствительности к гонадотропной стимуляции основывается в первую очередь на оценке риска развития СГЯ с использованием значений АМГ [58, 395]. Т.Н. Lee et al. (2008) предложили выделять группу пациенток с чрезмерной гиперэргической реакцией яичников при значениях АМГ > 3,35 нг/мл [395]. Согласно типологии реакции на введение ФСГ, предложенной S.M. Nelson et al. (2009), последняя отсутствует при значении АМГ < 0,154 нг/мл, плохой ответ регистрируется при 0,154-0,7 нг/мл, нормальный – 0,71-2,1 нг/мл, высокий – > 2,11 нг/мл [58].

Учитывая многофакторный подход в выборе стартовой дозы гонадотропинов в представленном исследовании установлен большой диапазон колебаний начальных дозировок ФСГ – от 75 до 325 МЕ. В работе показано, что стартовая доза не зависит от формы бесплодия в целом ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,395$).

Собственные данные показывают, что в молодом репродуктивном возрасте после СЭ медиана начальной дозы ФСГ ниже таковых в группах «окклюзии» и «ановуляции» ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,045$). Вероятно, СЭ выступает фактором, априори гарантирующим сохраненный ОР и лучший ответ на стимуляцию, так как медианы значений АМГ, КАФ, ИМТ значимо не отличаются от контроля и групп сравнения. В то же время, если удаление маточных труб проводится по поводу трубной беременности может потребоваться увеличение дозы гонадотропинов. Ретроспективный анализ 76 циклов ВРТ до и после сальпингокелифэктомии, проведенный W. Xi et al. (2012), показывает, что в протоколах стимуляции суперовуляции после радикальной операции на маточных трубах стартовые и курсовые дозы ФСГ выше чем у женщин без истории хирургического вмешательства [340].

Сопоставление начальной дозы ФСГ в каждой группе в зависимости от возраста в настоящей работе демонстрирует влияние последнего только при трубном бесплодии ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,019$). Т.е. при наличии хронических воспалительных заболеваний ОМТ, вне зависимости от проведенного оперативного лечения (СЭ ±) в позднем репродуктивном возрасте (35-45 лет) предполагается сниженный ОР и худший ответ на стимуляцию.

В представленном исследовании средняя продолжительность стимуляции при различных видах инфертильности составляет 9,1 дней (6-15 дней), не отличается при трубном бесплодии и хронической ановуляции ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} = 0,683$), и не зависит от возраста ($p_{\text{Манна-Уитни}} \geq 0,099$). Что согласуется с данными литературы [388]. Выбранные в исследовании стартовые дозы и длительность контролируемой овариальной стимуляции соответствуют общепринятому на сегодняшний день минималистическому подходу «7 ампул» Джонса (150-300 МЕ ФСГ в течение 9-10 дней) [263].

Собственные данные показывают, что курсовая доза ФСГ также определяется различными факторами и имеет значительные колебания (от 475 до 4500 МЕ). Суммарная доза гонадотропинов не зависит от формы бесплодия в целом ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} = 0,170$), одинакова в разных возрастных группах: до 35 лет ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} = 0,078$) и после 35 лет ($p_{\text{ANOVA}} = 0,500$). Только при трубном бесплодии возраст является ведущим фактором назначения более высокой курсовой дозы ФСГ ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,005$), что в целом согласуется с данными литературы для «стандартных пациенток» [263]. Соответственно, при трубном бесплодии возраст оказывает более негативное влияние на параметры стимуляции, при хронической ановуляции её оптимальный результат в группе 35-45 лет не связан с увеличением стартовой и курсовой доз гонадотропинов, несмотря на значимые снижение АМГ и КАФ, повышение ФСГ с возрастом у пациенток этой группы ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,026$).

В представленной работе вне зависимости от фактора бесплодия преобладают протоколы с заменой триггера (58%). Человеческий ХГ, в дополнение к его известному эндокринному действию на ЖТ, является

традиционным методом для финального созревания овоцитов. Лютеотрофический эффект ХГ связан с увеличением вероятности развития СГЯ [210]. Одними из ключевых профилактических мер по предотвращению данного заболевания являются замена триггера овуляции на агонист ГнРГ и витрификация эмбрионов в связи со сниженной частотой живорождения и повышенной – выкидыша при подобном подходе [159]. Собственные данные показывают, что различий в частотах клинической беременности и живорождения при замене триггера не выявлено ($p_{\text{точный Фишера}} \geq 0,374$). Витрификации подвергаются эмбрионы у 27% женщин. Протокол с антаГнРГ, высокая доля замены триггера, введение антаГнРГ в день трансвагинальной пункции, а также технология «freeze all» при количестве пунктированных фолликулов ≥ 15 позволяют избежать развитие СГЯ у всех пациенток в выполненной работе.

Настоящее исследование показывает одинаковую частоту назначения триггеров овуляции (трипторелин, α ХГ) при различных видах бесплодия ($p_{\chi^2} \geq 0,670$). При билатеральной СЭ и хронической ановуляции возраст является фактором выбора триггера ($p_{\text{точный Фишера}} \leq 0,390$), в молодом чаще назначается аГнРГ, в позднем – α ХГ, что, вероятно, сопряжено с более высоким риском развития СГЯ в молодом репродуктивном возрасте.

Собственные данные показывают, что среднее количество пунктированных фолликулов и полученных овоцитов при различных видах инфертильности составляет $\sim 10,1$ и $\sim 6,4$, соответственно, не отличается при трубном бесплодии и хронической ановуляции ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} \geq 0,619$). Результаты согласуются с данными литературы. S.K. Sunkara et al. (2011), проанализировав более 400 тыс. циклов ЭКО, установили среднее число овоцитов при трансвагинальной пункции фолликулов – 9 (6-13) и общую частоту живорождения 21,3% [65]. В представленном исследовании несколько меньшее число полученных овоцитов сопровождается более высокой частотой живорождения – 30,2% (37% – до 35 лет, 23% – после 35 лет), что, вероятно, оправдывает тактику минимальной стимуляции.

В мета-анализе M.F. Verberg et al. (2009) показана оптимальная частота имплантации (31%) при получении всего 5 овоцитов в результате мягкой стимуляции и 29% при 10 овоцитах после обычной стимуляции [431]. Авторами отмечено, что небольшое количество овоцитов сопряжено с лучшим качеством эмбрионов, и, соответственно, клиническим исходом при минимальных затратах и стабильной безопасности, резко контрастирует с «бедным» ответом, обусловленным овариальным старением. Однако, по мнению S.K. Sunkara et al. (2011), оптимальным количеством полученных овоцитов следует считать ~15, так как согласно логистической модели правдоподобия указанное количество определяет максимальную частоту живорождения, достигающую 40% в молодом репродуктивном возрасте, 36% в возрасте 35-37 лет, 27% – в 38-39 лет, 17% – старше 40 лет [65]. Данные авторов согласуются с более поздними работами [67, 93, 324] и свидетельствуют о том, что возраст предопределяет качество и количество овоцитов, которые прогнозируют вероятность живорождения.

Согласно результатам собственного исследования количество полученных овоцитов составляет почти четверть (73%) от числа пунктированных фолликулов, т.е. соответствует ответу на стимуляцию ($r_s=0,934$, $p<0,001$). Вне зависимости от причины бесплодия количество пунктированных фолликулов и найденных овоцитов оказывается ниже в 1,5 раза в позднем репродуктивном возрасте по сравнению с таковым в молодом ($p_{\text{Манна-Уитни}}\leq 0,036$), что свидетельствует о приоритете возрастного критерия над формой бесплодия. Только после СЭ выход овоцитов в возрасте 35-45 лет (81%) выше такового в 21-34 года (63%, $p_{\text{Манна-Уитни}}<0,001$). Более эффективная стимуляция после операции в старшей возрастной группе может быть связана с особенностями трансвагинальной пункции (хирургической коррекцией воспалительных изменений в придатках матки при проведении СЭ, делающей трансвагинальный доступ к гонадам более достигаемым). С учётом асинхронного роста фолликулов при применении протокола с антаГнРГ [35] при меньшем их количестве в возрасте старше 35 лет шанс получения половой клетки возрастает, так как

триггер овуляции назначается, когда большинство фолликулов достигает заданного размера (отрицательная корреляция средней силы между количеством пунктированных фолликулов и долей получения овоцитов: $r_s = -0,501$, $p = 0,001$).

Е. Camus et al. (1999) отмечают, что при трубном бесплодии гидросальпинкс может напоминать крупный фолликул, способствует ложной интерпретации мониторинга стимуляции яичников [357]. Во время трансвагинальной пункции случайная аспирация гидросальпинкса загрязняет культуральную среду инфекционными и токсическими агентами. Воспалительный экссудат при трубном бесплодии содержит низкие уровни белков и бикарбоната, клеточный детрит, лимфоциты и другие элементы, такие как цитокины, простагландины, лейкотриены и катехоламины. Эти компоненты имеют не только неблагоприятные иммунологические последствия для эмбриона и эндометрия, но также гораздо раньше могут поставить под угрозу качество овоцитов [357].

Собственные результаты анализа морфологии половых клеток, полученных при пункции, показывают, что доля зрелых клеток составляет почти 70% и не зависит от формы бесплодия ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} = 0,543$). После СЭ и в группе «хроническая ановуляция» поздний репродуктивный возраст является фактором получения большей доли МП по сравнению с таковым в 21-35 лет ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,027$). В последней также отмечена меньшая доля незрелых и дегенеративных овоцитов в 35-45 лет ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,033$). Предполагается вывод о том, что меньшее количество овоцитов сопряжено с лучшим их качеством, что согласуется с результатами представленного выше исследования M.F. Verberg et al. (2009) [431]. Только у пациенток с хронической ановуляцией понятия «количество» и «качество» оказываются не идентичными. В позднем репродуктивном возрасте обнаружена отрицательная взаимосвязь между количеством полученных овоцитов и долей зрелых половых клеток ($r_s = -0,463$, $p = 0,007$). Т.е. чем больше овоцитов получено при пункции фолликулов, тем хуже их качество, несмотря на высокую долю МП. Учитывая одинаковые курсовые дозы и длительность стимуляции в группах настоящей работы и, результаты, представленные выше, вероятно, возраст более критично сказывается на

функции яичников при хронической ановуляции. M.N. Kalem et al. (2016) при хронической ановуляции определяют критический возраст снижения количества и качества овоцитов в 35 лет, особенно в группе пациенток с высоким показателем ИМТ [140]. В исследовании Y.I. Hwang et al. (2016) показано, что при поликистозных яичниках фертильность в протоколах ЭКО сохраняется до возраста 38 лет, в старшей возрастной группе частота беременности снижается, хотя число получаемых овоцитов остаётся стабильным [181]. Авторы также указывают, что частота беременности при СПКЯ выше таковой при трубном бесплодии, что в целом не противоречит настоящему исследованию.

Собственный анализ сингамии показывает среднее количество оплодотворённых овоцитов 4,8, долю нормального оплодотворения ~75% и отсутствие зависимости от формы бесплодия ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}}=0,115$) и возраста ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,604$). Согласно данным литературы в среднем успешно оплодотворяется только 60-70% полученных овоцитов [131]. Риск отсутствия сингамии после обычного ЭКО оценивается в 12,5% при нормальных показателях спермограммы и трубном факторе бесплодия, 16,7% – при необъяснимом и до 50% при астенозооспермии [107].

Результаты настоящего исследования показывают, что после СЭ при трубном бесплодии количество оплодотворённых овоцитов в возрасте 35-45 лет выше такового в 21-34 года ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,041$). При хронической ановуляции в старшей возрастной группе количество оплодотворённых овоцитов ниже ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,001$), а доля отсутствующего оплодотворения выше ($p_{\text{Манна-Уитни}}=0,045$) таковых в молодом репродуктивном возрасте.

Таким образом, после перенесённой СЭ в возрасте старше 35 лет, несмотря на меньшее количество пунктированных и полученных овоцитов, увеличена доля зрелых половых клеток и шанс сингамии, так как установлено большее количество оплодотворённых клеток (доля $2pn$ значимо не меняется). При хронической ановуляции в возрасте старше 35 лет получена противоположная тенденция. Возрастной фактор (как и в случае «СЭ») приводит к меньшему количеству пунктированных и полученных овоцитов, при этом возрастает доля

получения МП, а шанс сингамии, вероятно, снижается, так как уменьшается количество оплодотворённых клеток и увеличивается доля Опн.

Поиск литературы за всё время по ключевым наукометрическим ресурсам: PubMed Medline и Cochrane Library показывает наличие всего 21 статьи, описывающих овариальный ответ в программах ВРТ после СЭ. 11 работ опубликованы в последние 5 лет. Анализ исследований свидетельствует об отсутствии единого мнения по характеру вмешательства на показатели индуцированного цикла. Наибольшее внимание для сопоставления с собственными данными заслуживают 3 мета-анализа, опубликованные в 2016 году [133, 175, 372].

S.H. Yoon et al. (2016), проанализировав 18 исследований (n=1482), показывают, что в протоколах ВРТ СЭ не приводит к увеличению курсовой дозы гонадотропинов (SMD 0,1; 95% ДИ -0,1-0,3; $I^2=84\%$), снижению числа овоцитов (SMD -0,1; 95% ДИ -0,2-0,1; $I^2=64\%$), значимо не влияет на частоту клинической беременности (ОШ 1,2; 95% ДИ, 0,9-1,6; $I^2=34\%$) [133]. Однако к выводам следует относиться с осторожностью в связи с высокими значениями индекса гетерогенности (I^2). M. Fan & L. Ma (2016) в мета-анализ включают уже 25 исследований (n=4828) [175]. Авторы устанавливают, что билатеральная СЭ приводит к увеличению дозы гонадотропинов при стимуляции яичников (IV 0,23; 95% ДИ 0,1-0,4; $I^2=36\%$). К меньшему числу получаемых овоцитов приводит как односторонняя радикальная операция (IV -0,17; 95% ДИ -0,3 - -0,1; $I^2=31\%$), так и двусторонняя (IV -0,20; 95% ДИ -0,3- -0,1; $I^2=48\%$), статистически значимое снижение также обнаружено не только на ипсилатеральной, но и контралатеральной стороне (IV 0,25; 95% ДИ -0,4 - -0,1; $I^2=48\%$). И, наконец, СЭ приводит к увеличению ФСГ (IV 0,39; 95% ДИ 0,2-0,6; $I^2=0\%$) [175]. Собственные данные показывают отсутствие значимого влияния на основные параметры стимуляции, но заключение относительно ФСГ поддерживается. F. Qin, D.F. Du & X.L. Li (2016) обнаруживают ограничение ОР у пациенток с СЭ (13 исследований): снижение АМГ и повышение ФСГ; концентрация E_2 и $V_{\text{я}}$ соответствуют значениям контроля [372]. При этом суммарная доза

гонадотропинов, количество овоцитов и частота клинической беременности в программах ВРТ не отличаются. Представленное исследование наиболее полно согласуется с собственными данными, которые показывают, что радикальная операция на маточных трубах не несёт негативного влияния на функцию яичников в краткосрочной перспективе, однако нарушает ОР в долгосрочной.

В настоящей работе установлено среднее количество развивающихся эмбрионов на 3-е и 5-е сутки при различных видах инфертильности – $\sim 4,6$ и $\sim 3,1$, «top» качества – 2,1 и 0,6 / пациентку, соответственно, не отличается при трубном бесплодии и хронической ановуляции ($p_{\text{Краскела-Уоллиса}} \geq 0,327$). В целом возраст является определяющим фактором общего количества эмбрионов ($p_{\text{Манна-Уитни}} \leq 0,062$), однако не влияет на число эмбрионов хорошего качества ($p_{\text{Манна-Уитни}} \geq 0,069$). По данным литературы количество и качество эмбрионов является ценным инструментом вероятности клинической беременности [64], так как позволяет выбрать одного эмбриона с высоким шансом имплантации для переноса в полость матки. По мнению авторов, наличие по меньшей мере 2-х эмбрионов (одного хорошего качества) является благоприятным прогностическим фактором. Собственные данные свидетельствуют, что при малом выходе бластоцист «top» качества (13%) возраст не является критическим фактором негативного исхода ВРТ. Причиной небольшого количества эмбрионов хорошего качества на 5-е сутки в настоящем исследовании может быть более «мягкая» стимуляция (курсовые дозы гонадотропинов в среднем в 1,5 раза ниже таковых в медико-экономических стандартах). Дополнительным фактором оказывается высокая частота эмбриопереноса на 3-е сутки (65% от всех свежих переносов). При подобном подходе потенциал дальнейшего развития и, следовательно, имплантации остаётся неизвестным [80, 81], существует большой риск асинхронизации между эндометрием и эмбрионом, также его экспульсии [176]. Кроме того, морфологические системы отбора эмбрионов на 3-й день малочисленны [74] и исключают возможность использования значительных достижений в области геномных подходов к оценке ploидности [256].

Несмотря на всё вышесказанное последние литературные данные свидетельствуют об одинаковой частоте имплантации, беременности и живорождения вне зависимости от выбора времени эмбриопереноса [256]. В последнем кохрановском обзоре доказательство превосходства 5-го дня над 3-м для эмбриопереноса с точки зрения живорождения низкое, значимой разницы между «свежими» и криопротоколами в исходах ЭКО нет [101]. Собственные данные демонстрируют отсутствие зависимости между временем свежего эмбриопереноса и исходами ВРТ, в том числе живорождения ($p_{\text{точный Фишера}} \geq 0,192$). В тоже время, использование криопротокола увеличивает вероятность клинической беременности ($p_{\text{точный Фишера}} = 0,011$), но не сказывается на частоте живорождения ($p_{\text{точный Фишера}} = 0,188$).

Эффективность вспомогательных репродуктивных технологий при трубном бесплодии. Роль сальпингэктомии. Хронический воспалительный процесс в маточных трубах может оказать негативное влияние на эффективность ВРТ [143]. Вероятность успешного исхода ЭКО может быть повышена хирургической окклюзией маточных труб, дренированием гидросальпинкса и СЭ [291], вошедшей в рутинную практику репродуктолога с 1999 года [230]. Несмотря на более высокую частоту имплантации после СЭ, многие вопросы подлежат обсуждению [344]. Собственные экспериментальные данные указывают на тесную анатомо-функциональную взаимосвязь мезосальпинкса и кровоснабжения гонад, что обуславливает поиск механизмов положительного эффекта радикальных операций на маточных трубах и ставит под сомнение необходимость шаблонного применения метода.

Полученные в настоящей клинической работе данные свидетельствуют об ограничении ОР при трубном бесплодии, поэтому небезынтересным выглядят результаты исследования в отношении эффективности применения ВРТ у пациенток с различными формами инфертильности в сравнительном аспекте и значение СЭ. Оценка проведена не только по частоте наступления клинической беременности и живорождения. Дополнительно исследованы частота «бедного

ответа» и другие исходы ЭКО (частота имплантации, прерывания и эктопической беременности).

В 2011 году Европейским обществом репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) представлена первая реалистичная попытка стандартизации определения «бедного» ответа яичников простым и воспроизводимым способом [162]. Несмотря на достигнутый консенсус, в течение последних 5 лет дискуссия относительно поправок к критериям «бедного» ответа продолжается. Основные вопросы также включают поиск и уточнение роли других факторов риска [498], в частности влияния таких распространённых оперативных вмешательств как ГЭ и/или СЭ [60]. Болонские критерии «бедного ответа» в большей степени носят методологический характер [498], не редко устанавливаются только *post factum* после проведённого протокола стимуляции

В действительном исследовании в соответствии с целью и задачами одним из неблагоприятных факторов риска предложена СЭ, и дополнительно включена категория «потенциально бедный ответ», основанная на известных предикторах ответа на стимуляцию, и позволяющая на догоспитальном этапе выявить категорию пациенток с ограничением функции яичников [1]. Исходя из новой категории, очевидным является то, что все пациентки вне зависимости от фактора бесплодия в позднем репродуктивном возрасте имеют потенциально меньшие шансы благоприятного ответа на стимуляцию. Собственные данные демонстрируют, что в молодом репродуктивном возрасте частота «потенциально бедного ответа» согласно представленным критериям составляет 47% и отличается в зависимости от причины infertility ($p_{\chi^2}=0,016$). После СЭ частота прогнозируемой неблагоприятной ответной реакции яичников оказывается более высокой, чем при хронической ановуляции ($p_{\text{точный Фишера}}=0,010$). Соответственно, на догоспитальном этапе история радикальной операции на маточных трубах рассматривается в качестве возможного предиктора «потенциально бедного ответа».

В настоящем исследовании частота «бедного ответа» согласно консенсусу ESHRE после проведённой стимуляции во всех группах оказывается

закономерно ниже (более жёсткие критерии) – 22%, однако значимо отличается в зависимости от группы бесплодия ($p_{\chi^2}=0,014$). При применении болонских критериев вклад СЭ в ответную реакцию яичников сохраняется ($p_{\text{точный Фишера}}=0,012$), однако носит прямо противоположный характер. De facto если не учитывать возраст частота «бедного ответа» при хронической ановуляции выше, эффект особенно выражен в старшей возрастной группе (>35 лет). Соответственно в молодом репродуктивном возрасте СЭ неблагоприятно сказывается на функции яичников, в позднем – является протективным фактором овариального ответа. По мнению I. González-Foruria et al. (2016) в естественных циклах ЭКО возраст является единственным предиктором наступления беременности и выкидышей, с критической отметкой в 35 лет. Исходы ВРТ даже не зависят от состояния ОР [45].

Собственные данные показывают, что несмотря на объективную взаимосвязь (совпадение основ мер классификации) между критериями ESHRE и предложенной категорией «потенциально бедный ответ» ($p_{\text{точный Фишера}}\leq 0,001$), последняя в практическом смысле более удобна на этапе консультирования пациенток с бесплодием. Обе в равной степени определяют исход ВРТ: клиническую беременность ($p_{\text{точный Фишера}}\leq 0,004$) и живорождение ($p_{\text{точный Фишера}}\leq 0,009$).

Результаты настоящей работы демонстрируют, что частоты имплантации ($p_{\chi^2}=0,679$), беременности на начатый цикл ($p_{\chi^2}=0,913$), живорождения ($p_{\chi^2}=0,876$) и прерывания беременности ($p_{\chi^2}=0,784$) аналогичны в группах «сальпингэктомия», «трубная окклюзия» и «хроническая ановуляция» в целом. Фактор бесплодия не влияет на указанные исходы в молодом ($p_{\chi^2}\geq 0,226$) и позднем ($p_{\chi^2}\geq 0,226$) репродуктивном возрасте. Сравнение двух возрастных групп (до и после 35 лет) вне зависимости от причины бесплодия показывает одинаковые частоты биохимической беременности и прерывания ($p_{\text{точный Фишера}}\geq 0,090$). Доли клинической беременности и живорождения значимо выше в молодом возрасте ($p_{\text{точный Фишера}}\leq 0,031$). При трубной окклюзии, равно как и после СЭ частоты имплантации и беременности выше в молодом репродуктивном

возрасте в 1,2-2,0 раза, однако незначительно ($p_{\text{точный Фишера}} \geq 0,208$). Полученные результаты указывают, что при трубном бесплодии СЭ мало влияет на исходы ВРТ, более определяющим фактором является возраст. Чем старше пациентка, тем ниже вероятность живорождения ($p_{\text{Г Спирмена}} = 0,002$). Аналогичные результаты получены Malacova E. et al. (2015) [151].

В литературе имеются данные, указывающие на преимущество удаления маточных труб при гидросальпинксе перед отсутствием вмешательства [230, 291, 418]. Однако, большинство последних работ демонстрируют более выгодные с точки зрения исходов ЭКО альтернативные радикальной операции методы хирургического лечения гидросальпинкса [418, 419]. Авторы указывают, что ключевой параметр оценки эффективности ЭКО (живорождение) для СЭ не известен. Согласно выводам Z. Pandian et al. (2008) исследования в первую очередь должны сравнивать неблагоприятные последствия предлагающихся методов хирургического лечения трубной патологии [416].

Для практического применения результатов собственного исследования проведена оценка вероятности исхода (клинической беременности на цикл) у пациенток с трубным бесплодием, связанная с наличием фактора риска – СЭ. Полученные результаты ($RR = 1,024$; 95% ДИ 0,63-1,65; $NNT = 120$; $Se = 63\%$; $Sp = 38\%$), не являются статистически значимыми. Ширина ДИ даёт четкое представление о значении относительного риска. Показано, что для увеличения клинической беременности на 1 случай в протоколах ВРТ требуется провести 120 СЭ у пациенток с трубным бесплодием, но чувствительность и специфичность операции крайне малы. Проведение радикальной операции на маточных трубах может увеличивать вероятность наступления беременности в протоколах ВРТ только в 1,024 раза.

Низкая эффективность проведённой операции может быть обусловлена различными факторами. По мнению ряда авторов женщины с гидросальпинксом представляют собой гетерогенную популяцию с потенциально различными результатами ЭКО [408]. Большее значение, вероятно, уделяется показаниям к операции и её объёму (уни- или билатеральная СЭ).

В настоящей работе всем пациенткам проведено двустороннее удаление маточных труб. Подобный дизайн исследования с одной стороны преследует цель показать репрезентативность выборки, с другой, демонстрирует максимально возможное воздействие на интактные гонады, и, вероятно, обуславливает низкую эффективность ВРТ при СЭ. Известно, что негативное воздействие гидросальпинкса на развитие беременности после ВРТ может иметь пороговый эффект, большая токсичность обнаруживается в случае двухстороннего поражения маточных труб [357]. Вероятно, и эффекты радикальной операции могут быть различными.

Собственные данные показывают, что основными показаниями для СЭ (56%) являются двухсторонние гидросальпинксы и облитерирующий сальпингит, а также трубная беременность (44%). При этом сальпингокелифэктомия является второй органоуносящей операцией у 18% пациенток. Соответственно, у части женщин проведено исследование эффективности ВРТ после сальпингокелифэктомии. В литературе имеются данные свидетельствующие об отсутствии влияния радикальной операции на трубах по поводу внематочной беременности на результаты ВРТ [148, 155, 338].

M. Parihar, A. Mirge & R. Hasabe (2009) обращают внимание на то, что эффективность ВРТ также определяется выраженностью воспалительного процесса в маточных трубах и степенью их анатомического повреждения [346]. F.I. Sharara (1999) подчёркивает, что СЭ не может является стандартом лечения у пациенток с гидросальпинксом. Неизбирательное удаление маточных труб может иметь большие негативные последствия перед функциональной хирургией органа [401].

Таким образом, основываясь на собственных данных и анализе литературы можно заключить, что удаление маточных труб должно проводиться строго по показаниям, так как представляет непреднамеренную угрозу функции яичников. Наибольшая эффективность радикальной операции в реализации репродуктивной функции (ЭКО) достигается при гидросальпинксах, имеющих большой размер, особенно в позднем репродуктивном возрасте. Небольшие

гидросальпинксы требуют функционального подхода к хирургии, при операции, вероятно, меньше нарушают овариальный гомеостаз и отрицательно не влияют на эффективность ВРТ. Реконструктивно-пластические операции более выгодны в молодом репродуктивном возрасте, в котором СЭ с профилактической целью не должна проводиться.

Исход беременности после реконструктивно-пластических операций на фаллопиевых трубах зависит от времени. В большинстве случаев ВРТ пациентам предлагается только через 12-18 месяцев после неудачного вмешательства [275, 318]. В собственной работе высказано предположение, что результативность ЭКО после билатеральной СЭ также зависит от временного периода между радикальной операцией и применением ВРТ.

Настоящее исследование показывает, что между временем от момента радикальной операции на маточных трубах до протокола ЭКО и клинической беременностью на начатый цикл имеется линейная взаимосвязь (r_{χ^2} для тренда $<0,001$), носящая отрицательную направленность ($\gamma_{\text{Гудмена-Краскела}} = -0,543$, $p < 0,001$). Т.е. при увеличении длительности ожидания ВРТ после СЭ вероятность беременности снижается. Максимальная эффективность операции в прогнозе живорождения наблюдается только, если ЭКО проводится не позже 3-х месяцев после радикальной операции на маточных трубах вне зависимости от возраста ($p_{\text{точный Фишера}} \leq 0,001$). При длительности ожидания более 3-х месяцев СЭ значимо не увеличивает частоту живорождения ($p_{\text{точный Фишера}} \geq 0,204$), тем самым обуславливая отсутствие явного эффекта от операции в работе в целом.

Таким образом, для снижения негативного влияния СЭ на репродуктивную функцию в краткосрочной перспективе, удаление маточных труб перед предстоящей программой ВРТ следует проводить не позже 3-х месяцев. В более долгосрочной перспективе ограничение ОР вследствие операции не приведёт к улучшению показателей клинической беременности и живорождения.

Комплексная оценка репродуктивной функции и прогнозирование исходов вспомогательных репродуктивных технологий. Использование маркёров ОР для индивидуального прогноза беременности должно основываться на нескольких

критериях [88]. Т.Е. Verhagen et al. (2008) показано, что наилучшим сочетанием чувствительности и специфичности диагностического метода обладают комбинационные модели с КАФ + ингибин В + ФСГ (75% и 95%), КАФ + ФСГ (72% и 93%), однако общая точность прогноза «бедного» ответа на стимуляцию практически не отличается от таковой при использовании изолированного теста (КАФ) [428]. Представленный обзор подчёркивает, что практически все тесты определяют количественные характеристики ОР, методы являются эффективными только в предсказании ответа яичников, и не могут в полной мере гарантировать наступление беременности или её исход. В связи с чем комбинированный протокол оценки ОР не рекомендуется [428].

В целом ни один из обзоров не учитывает возраст пациентов, являющийся единственным суррогатным маркёром качества овоцитов при оценке функции яичников. Несмотря на отсутствие единого точного теста прогноза живорождения после спонтанного полового акта или ЭКО, предполагается, что общая точность предсказания ответа на стимуляцию, беременности и живорождения, может быть значительно улучшена в комбинационных моделях с включением дополнительных данных о состоянии репродуктивной функции.

В представленной работе заключительным этапом явилась разработка прогностической модели эффективности ВРТ у пациенток с трубным бесплодием, учитывающая также возраст пациенток. Для построения диагностических решающих правил использовались бинарная логистическая регрессия и дискриминантный анализ. Основным подходом являлось привлечение предыдущего опыта. На основании обучающих выборок многомерный массив данных (предикторов) преобразовывался в одномерный показатель для прогнозирования принадлежности наблюдений к группам (отвечал на вопрос: будет ли беременность / живорождение).

По мнению ASRM (2015) использование нескольких тестов ОР сопряжено с проблемой автокорреляции в многомерных моделях, и как следствие их высокой ненадёжностью [426]. Для минимизации указанных проблем согласно правилам дискриминантного анализа количество предикторов должно быть в

несколько раз меньше количества наблюдений [426]. Применительно к собственной работе установленное количество маркёров превышает число наблюдений более чем в 10 раз.

В настоящей работе для прогностической оценки использовались не только общепринятые параметры ОР. Изучена роль возможных клиничко-анамнестических предикторов эффективности ВРТ, дополнительно сделан акцент на возраст и концептуальный маркёр – СЭ. Увеличение возраста связано с уменьшением вероятности беременности, однако, только этот параметр оценки, не гарантирует точный прогноз исхода ВРТ. Несмотря на согласованность собственной модели бинарной логистической регрессии (критерий согласия Хосмера-Лемешева, $p=0,024$), мера правдоподобия (-2LL) после добавления предиктора «возраст» мало изменяется. Модель объясняет 10% (r^2 Нэйджелкерка) дисперсии в исходе ВРТ и позволяет правильно классифицировать только 63% случаев (12% ложноотрицательных и 80% ложноположительных результатов). Т.е. качество модели, основанное на одном, даже ключевом параметре – «возраст», крайне низкое. Для прогноза живорождения, как исхода ВРТ, получены аналогичные данные. Увеличение возраста сопряжено с уменьшением вероятности живорождения. Точность прогнозирования остаётся низкой: 73% (4% ложноотрицательных и 82% ложноположительных результатов). Добавление в модель логистической регрессии к возрасту СЭ (два параметра) прогноз исхода ВРТ практически не меняется. Наличие СЭ в 0,1 раза чаще приводит к клинической беременности. Точность модели составляет 63% (чувствительность крайне низкая – 24%, специфичность высокая – 85%), что делает её неприменимой на практике.

На данный момент не существует РКИ, сравнивающих ЭКО с естественным зачатием. Шансы на успех в каждом протоколе зависят от множества факторов, основу которых составляют объективные показатели функции яичников (тесты ОР). Предикторами также являются демографические характеристики, история заболевания и его проявления, результаты предыдущих методов лечения [354]. Прогноз эффективности ВРТ на основе только клинического опыта является не

точным, поэтому единственным способом должного консультирования супружеских пар с бесплодием являются прогностические модели [354]. В настоящее время разработано более 20 моделей прогнозирования исходов ВРТ, однако не все они имеют желаемую дискриминационную мощность (AUC) или прошли внешнюю проверку. С клинической точки зрения, наиболее удобными могут быть возраст-специфические модели логистической регрессии прогноза клинической беременности и живорождения на основе трёх параметров функционального ОР (количество эмбрионов хорошего качества, ФСГ и АМГ), предложенные N. Gleicher et al. (2016) [120]. Перспективным является также мультимодальная модель, разработанная R. Venturella et al. (2015), которая позволяет определить возраст яичников с помощью различных предикторов ОР [455]. В практическом смысле модели удобны, однако в первой комплексный подход ограничивается включением только двух предикторов в каждой схеме, а вторая опирается на эндокринный фактор бесплодия. Кроме того, оба прогноза не дают дихотомического ответа (да или нет) на интересующий супружескую пару вопрос: «будет ли беременность?».

В настоящем исследовании для прогноза исхода ВРТ в дискриминантное уравнение введён массив данных, содержащий показатели ОР, наиболее значимо отражающие функциональное состояние яичников, а также клинко-анамнестические характеристики пациенток. Для точной оценки алгоритм включает пошаговый выбор набора переменных. Большой относительный собственный вклад в дискриминацию для построения окончательного вида функции вносят живорождение в анамнезе, $V_{я}$, концентрации E_2 и АМГ. Учитывая, что ультразвуковые ($V_{я}$, КАФ) и гормональные (АМГ, ФСГ, ингибин В, E_2) тесты ОР являются неотъемлемой частью подготовки к любому протоколу ВРТ, а клинко-анамнестические данные не требуют специфической диагностики, для построения окончательного вида дискриминантной функции могут использоваться без ограничений. Результаты собственного исследования показывают, что использование множества предикторов имеет мультипликативный эффект. Для персонализированной и оптимально доступной

оценки исхода ВРТ дальнейший алгоритм включает принудительный выбор набора переменных. Расчёт вероятности наступления беременности при трубном бесплодии в результате ЭКО основывается на указанных параметрах ОР ($V_{я}$, КАФ, АМГ, ФСГ, ингибин В, E_2), возрасте, ИМТ и длительности бесплодия – девяти предикторах, имеющих решающее значение в построении дискриминантных функций. Эмбриологические характеристики специально исключены из анализа, так как целями построения прогноза являются предсказание эффективности ВРТ и должное консультирование на догоспитальном этапе.

Анализ коэффициентов канонической дискриминантной функции при принудительном включении переменных демонстрирует большой относительный собственный вклад в дискриминацию E_2 (1,257), ФСГ (0,964), $V_{я}$ (0,792) и ИМТ (0,784). При выборе всех указанных предикторов коэффициент канонической корреляции удачно разделяет на классы ($r=0,795$), а λ Уилкса ($p=0,004$) указывает на значимое различие средних значений дискриминантной функции. Модель обладает высокой чувствительностью (94%) и специфичностью (100%), позволяет с вероятностью 97% апостериорно прогнозировать наступление беременности. Кросс-проверка (априорная классификация) свидетельствует о сохраняющейся высокой точности на новых образцах (91%; $Se=83\%$, $Sp=100\%$). Принудительное включение в дискриминантную функцию десятого предиктора – «наличие СЭ» демонстрирует наименьший относительный собственный вклад в уравнении ($-0,113$). Точность прогноза не меняется ($AUC=97\%$), при кросс-проверке (91%; $Se=83\%$, $Sp=100\%$), что указывает на избыточность маркера. Прогноз живорождения оказывается закономерно ниже предсказания клинической беременности (87% и 82% при кросс-проверке).

Таким образом, в практике гинекологов появилась новая надёжная прогностическая модель для должного консультирования пациенток с трубным бесплодием, позволяющая оценить не только состояние гонад, но и шанс беременности / живорождения в предстоящем протоколе ВРТ.

ВЫВОДЫ

1. Радикальная операция на матке усиливает инволютивные процессы в гонадах. Нарушение репродуктивного здоровья в период менопаузального перехода не зависит от показания к гистерэктомии, обусловлено возрастом.

2. Проведение сальпингэктомии в программах вспомогательных репродуктивных технологий приводит к угнетению функции яичников. Степень и длительность нарушения репродуктивной функции не зависит от причины infertility, определяется прежде всего возрастом.

3. Оппортунистическая сальпингэктомия приводит к снижению количества антральных фолликулов, угнетает функцию яичников менее выражено, чем изолированное удаление матки, влияет на степень тяжести нейровегетативных и психоэмоциональных симптомов ($p_{\chi^2} \leq 0,002$). Гистерэктомия без яичников сопровождается снижением ингибина В и объёма гонад, гипергонадотропным гипогонадизмом, формированием вторичной овариальной недостаточности.

4. Удаление маточных труб при трубном бесплодии в молодом репродуктивном возрасте ограничивает функциональный овариальный резерв, проявляется относительным повышением фолликулостимулирующего гормона, снижением эстрадиола и ингибина В при нормальных ультразвуковых (количество антральных фолликулов и объём гонад) показателях функции яичников. В позднем репродуктивном возрасте эффекты сальпингэктомии на овариальную функцию менее выражены и не влияют на параметры стимуляции, количественные и качественные характеристики эмбриологического этапа и исходы вспомогательных репродуктивных технологий. Высокая частота клинической беременности и живорождения в программах экстракорпорального оплодотворения отмечается в течение 3-х месяцев с момента оперативного лечения ($p_{\text{точный Фишера}} \leq 0,001$).

5. Предикторами эффективности вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с трубным бесплодием являются возраст, живорождение в анамнезе, длительность бесплодия, индекс массы тела, ультразвуковые и гормональные показатели овариального резерва, комплексная оценка которых в математической модели с чувствительностью 83% и специфичностью 100%

позволяет прогнозировать клиническую беременность. Возраст является ключевым фактором ответа яичников на стимуляцию вне зависимости от причины бесплодия и сальпингэктомии, обуславливает высокую частоту «бедного ответа» и низкую клинической беременности в старшей возрастной группе (после 35 лет).

6. Удаление маточных рогов и яйцеводов в эксперименте нарушает структурно-функциональную организацию гонад. Гемодинамические нарушения в сосудах микроциркуляторного русла (стаз, сладж и тромбоз) и повреждение генеративного и эндокринного аппарата гонад носят универсальный характер, определяются вне зависимости от объёма операции. Дегенеративные изменения выражены в растущих фолликулах, проявляются дисконкомплексацией фолликулярных эпителиоцитов, отёком цитоплазмы, кариопикнозом, -рексисом, -лизисом в гормонопродуцирующих клетках и овоцитах, деструкцией эндоскелета.

7. Морфоколичественная динамика генеративных элементов яичников после удаления маточных рогов и яйцеводов в эксперименте свидетельствует об инициации примордиальных фолликулов в ранние сроки после операции (2-е сутки): снижении их количества и увеличении растущих форм (положительной корреляции между ними, $r_p=0,557$, $p<0,001$). Полноценность фолликулогенеза в дальнейшем (40-60-е сутки) ограничена количественно (редукция генеративных элементов) и качественно. Отмечаются преждевременная лютеинизация фолликулов (отрицательная корреляция между третичными фолликулами и жёлтыми телами, $r_p= -0,239$, $p<0,001$), хроническая ановуляция (снижение жёлтых тел до 2 раз), формирование кист (удельный объём кистозно-атрезизирующихся фолликулов достигает 9%). Исходом является уменьшение объёма гонад (до 2-х раз).

8. Повреждение генеративного аппарата яичников после удаления маточных рогов и яйцеводов приводит к нарушениям гормонального статуса и эстропаузе, кольпоцитологически характеризуется неустойчивым эстральным циклом, персистирующим эструсом. Степень выраженности гормональных изменений не зависит от выбора метода гемостаза (концентрация фолликулостимулирующего

гормона равнозначна при использовании механической и электрической энергии). Наибольшая утрата функционального овариального резерва отмечается при комбинированном удалении маточных рогов и яйцеводов (снижение антимюллера гормона и тестостерона более чем в 2 раза, ингибина В и повышение фолликулостимулирующего гормона до 1,2 раз), наименьшая – при изолированном удалении маточных труб или матки (снижение антимюллера гормона и тестостерона почти в 2 раза).

9. Молекулярные маркёры фолликулярного развития свидетельствуют о высокой пролиферативной активности гранулёзы (снижение экспрессии антимюллера гормона в фолликулярном эпителии преантральных и малых антральных фолликулов) и компетентности фолликуло- и оогенеза (увеличение экспрессии костного морфогенетического белка 15 в овоцитах всех типов растущих фолликулов и коннексина 37 в овоцитах фолликулов, начиная с антральной стадии) в ранние сроки (2-10-е сутки) после удаления маточных рогов и яйцеводов. Последующие изменения (30-е сутки) сигнальных молекул указывают на неполноценность заключительных этапов фолликулярного роста (относительное снижение костного морфогенетического белка 15 и коннексина 37 в овоцитах вторичных и третичных фолликулов).

10. Применение дегидроэпиандростерона в эксперименте ограничивает снижение овариального резерва после радикальных операций на матке и маточных трубах: предотвращает повышение фолликулостимулирующего гормона, уменьшение тестостерона и антимюллера гормона. Дегидроэпиандростерон-индуцированный метаморфоз гонад свидетельствует о завершённости фолликулогенеза: увеличении третичных фолликулов и жёлтых тел, положительной корреляции между ними ($r_p=0,208$, $p=0,004$). После отмены прогормона (2-10-е сутки) отмечается гиперплазия внутреннего слоя теки (удельный объём достигает 3%), стимуляция фолликулярного роста и замедление атрезии (увеличение растущих и снижение атретических фолликулов до 2 раз). Через 1-2 месяца после отмены дегидроэпиандростерона динамические и структурные преобразования в гонадах менее выраженные, чем таковые после операции без применения прогормона.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для снижения непреднамеренной хирургической агрессии на органы малого таза без прямого повреждения гонад (гистерэктомия, сальпингэктомия) периоперационные терапевтические меры должны исходить из оценки репродуктивного здоровья.

I. Гистерэктомия в период менопаузального перехода.

1) Хирургическим доступом выбора для радикальной операции на матке должна являться лапароскопия. С точки зрения функционального состояния гонад аргументирован объём оперативного лечения, ограниченный субтотальной гистерэктомией без придатков. Использование механической энергии с целью гемостаза не обладает преимуществами перед электрохирургией.

2) Профилактическое удаление маточных труб в позднем репродуктивном возрасте обосновано пациентам с высоким риском развития серозного рака яичников в качестве операции, откладывающей проведение овариоэктомии до периода менопаузального перехода. В клинический протокол обследования перед сальпингэктомией необходимо включать генеалогический анамнез и диагностику генетической нестабильности. При низком риске развития неоплазии удаление маточных труб не должно проводиться.

3) Оппортунистическая сальпингэктомия в период менопаузального перехода должна проводиться при наличии признаков хронического воспалительного процесса в придатках матки, что позволит предотвратить повторные оперативные вмешательства на органах малого таза.

4) До и после (через 3 месяца) гистерэктомии вне зависимости от показания к операции и оппортунистической сальпингэктомии показано исследование гормональных (фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны, ингибин В, эстрадиол) и ультразвуковых (объём яичников, количество антральных фолликулов) показателей овариального резерва, оценка степени тяжести климактерического / постгистерэктомического синдрома по менопаузальному индексу Куппермана-Уваровой (1983). При снижении

показателей овариального резерва (в 1,3-1,5 раза) показано назначение менопаузальной гормональной терапии, либо её коррекция с учётом значений менопаузального индекса.

II. Сальпингэктомия в репродуктивном возрасте.

1) Экстракорпоральное оплодотворение при трубном бесплодии следует проводить как можно раньше, так как результативность программы снижается с возрастом и увеличением длительности инфертильности. Эффективность вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с трубным бесплодием после сальпингэктомии в ближайшие 3 месяца выше отсроченного проведения экстракорпорального оплодотворения, а наличие референтных значений показателей функционального овариального резерва не гарантирует сохранную функцию гонад, адекватный ответ на стимуляцию и беременность.

2) С целью оптимизации исходов экстракорпорального оплодотворения удаление маточных труб более целесообразно в позднем репродуктивном возрасте (35-45 лет). При воспалительных заболеваниях придатков матки сальпингэктомия должна предшествовать вспомогательным репродуктивным технологиям. В молодом репродуктивном возрасте (до 35 лет) при проксимальной трубной окклюзии удаление маточных труб не должно проводиться. При дистальном нарушении проходимости (гидросальпинкс) методы функциональной хирургии маточных труб (реконструктивно-пластические операции) являются более обоснованными.

3) При трубном бесплодии перед вспомогательными репродуктивными технологиями необходима комплексная оценка показателей репродуктивного здоровья: живорождения в анамнезе, длительности бесплодия, индекс массы тела, овариального резерва (возраст, объём яичников, количество антральных фолликулов, антимюллеров и фолликулостимулирующий гормоны, ингибин В, эстрадиол). Персонализированный подход, основанный на мультипликативном эффекте предикторов прогноза исхода экстракорпорального оплодотворения, использующихся в математической модели, позволяет добиться точности более 90%.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

$V_{я}$	– объём яичников
АМГ	– антимюллеров гормон
АМК	– аномальные маточные кровотечения
АФ	– атретические фолликулы и тела
ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
ВРТ	– вспомогательные репродуктивные технологии
ВРФ	– вторичные фолликулы (растущие)
ГТ	– гормональная терапия
ГЭ	– гистерэктомия
ДГЭА	– дегидроэпиандростерон
E_2	– эстрадиол
ЖТ	– жёлтые тела
ИМТ	– индекс массы тела
КАФ	– количество антральных фолликулов
ЛГ	– лютеинизирующий гормон
ММИ	– модифицированный менопаузальный индекс
МЭ	– миомэктомия
ОР	– овариальный резерв
ПОН	– преждевременная овариальная недостаточность
ПРФ	– первичные фолликулы (растущие)
ПФ	– примордиальные фолликулы
РКИ	– рандомизированные клинические исследования
СибГМУ	– Сибирский государственный медицинский университет
СПКЯ	– синдром поликистозных яичников
СЭ	– сальпингэктомия
Тес	– тестостерон
ТРФ	– третичные фолликулы (растущие)
ТТГ	– тиреотропный гормон
T_4	– свободный тироксин
УЗИ ОМТ	– ультразвуковое исследование органов малого таза
ФСГ	– фолликулостимулирующий гормон
ХГ	– хориогонадотропин
ЭКО	– экстракорпоральное оплодотворение
ЭХ	– электрохирургия

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

1. Бекетова, А.Н. Выбор гонадотропинов при стимуляции яичников в программах экстракорпорального оплодотворения у пациенток с риском субоптимального / бедного ответа : дис. ... канд. мед. наук / А.Н. Бекетова. – М., 2016. – 110 с.
2. Боярский, К.Ю. Факторы, определяющие овариальный резерв / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдуков, А.С. Чкуасели // Журн. акуш. и жен. бол. – 2009. – Том 58(2). – С. 65-71.
3. Бухарина, И.Ю. Морфофункциональные изменения придатков матки при монополярной коагуляции и их коррекция антиоксидантным комплексом : автореф. дис ... канд. мед. наук / И.Ю. Бухарина. – Томск, 2003. – 19 с.
4. Вихляева, Е.М. Руководство по эндокринной гинекологии / Е.М. Вихляева. – М., 1997. – 768 с.
5. Влияние лапароскопической гистерэктомии с маточными трубами на функциональное состояние яичников: результаты рандомизированного клинического исследования / А.А. Попов [и др.] // Проблемы репродукции. – 2015. – Том 21 (4). – С. 35–42.
6. Волкова, О.В. Морфогенетические основы развития и функции яичников / О.В. Волкова, Т.Г. Боровая. – М. : РГМУ, 1999. – 253 с.
7. Володин, С.К. Хирургическая профилактика нейроэндокринных нарушений после надвлагалищной ампутации матки : автореф. дис. д-ра мед. наук / С.К. Володин. – Казань, 1997. – 41 с.
8. Воспалительные заболевания органов малого таза: влияние на репродуктивное состояние женщин, перспективы лечения / Т.Н. Савченко [и др.] // Лечащий врач. – 2004. – № 12. – С. 8-11.
9. Дзейтова, Х.М. Особенности метаболических и цитохимических изменений у больных с синдромом хирургической менопаузы : автореф. дис. канд. мед. наук / Х.М. Дзейтова. – М., 2009. – 24 с.
10. Доброхотова, Ю.Э. Ливиал в лечении синдрома постгистерэктомии / Ю.Э. Доброхотова // Гинекология. – 2002. – Том 4 (4). – С. 178-181.
11. Калинин, С.Ю. Роль андрогенов у женщин: что мы знаем? / С.Ю. Калинин, С.С. Апетов // Леч. врач. – 2009. – Том 10 (8). – С. 78-83.
12. Корнилов, Н.В. Триггер финального созревания фолликулов в программах ЭКО. Агонисты ГнРГ для триггера финального созревания фолликулов (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2002. – № 3. – С. 26-33.
13. Кулаков, В.И. Гистерэктомия и здоровье женщины / В.И. Кулаков, Л.В. Адамян, С.И. Аскольская. – М. : Медицина, 1999. – 312 с.
14. Мусаев, Р.Д. Функциональное состояние яичников у женщин репродуктивного возраста после различных методов хирургического вмешательства на придатках матки : автореф. дис ... канд. мед. наук / Р.Д. Мусаев. – М., 2012. – 23 с.
15. Назаренко, Т.А. Стимуляция функции яичников / Т.А. Назаренко. – М. : Медпресс-информ, 2015. – 288 с.

16. Назаренко, Т.А. ЭКО при гинекологических и эндокринных заболеваниях / Т.А. Назаренко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 176 с.
17. Невоструев, С.А. Морфофункциональное состояние придатков матки при хроническом воспалении и комплексном лечении с использованием грязевого экстракта (экспериментально-клиническое исследование) : автореф. дис ... канд. мед. наук / С.А. Невоструев. – Томск, 2004. – 25 с.
18. Новая технология противорецидивной гормональной терапии гиперпластических процессов эндометрия у женщин позднего репродуктивного возраста / В.И. Краснопольский [и др.] // Лечащий врач. – 2012. – № 11. – С. 12-16.
19. Обухова, Ю.Д. Морфология яичников в различные периоды онтогенеза / Ю.Д. Обухова // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Том XVII (2) – С. 301-305.
20. Радзинский, В.Е. Овариальный резерв и фертильность: сложности XXI века / В.Е. Радзинский. – М. : StatusPraesens, 2015. – 24 с.
21. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека / пер. с англ. Н.П. Макарова; науч. ред. Л.Ф. Курило. – Изд. 5-е. – М. : Капитал Принт, 2012. – 291 с.
22. Савицкий, Г.А. Роль локальной гиперэстрадиолемии в патогенезе возникновения и роста миомы матки / Г.А. Савицкий // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Том LVIII (4). – С. 79-92.
23. Синдром гистерэктомии с односторонней аднексэктомией на фоне метаболической и антигипертензивной терапии / Н.М. Подзолкова [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2005. – №1. – С. 26-31.
24. Сметник, В.П. Неоперативная гинекология: руководство для практических врачей / В.П. Сметник, Л.Г. Тумилович. – МЕДпресс-информ, 2010. – 408 с.
25. Современный взгляд на профилактическую тубэктомию / А.А. Попов [и др.] // Кубанский науч. мед. вест. – 2015. – № 2. – С. 122-128.
26. Состояние овариального резерва при некоторых формах функционального бесплодия / Д.О. Жорданидзе [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2010. № 5. – С. 25-31.
27. Шамилова, Н.Н. Клинико-прогностическое значение различных молекулярно-биологических маркеров при преждевременной недостаточности яичников : автореф. дис ... канд. мед. наук / Н.Н. Шамилова. – М., 2012. – 27 с.
28. Шамилова, Н.Н. Новые возможности в терапии бесплодия при преждевременной недостаточности яичников / Н.Н. Шамилова, Л.А. Марченко, Г.И. Табеева // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 1. – С. 10-14.
29. 28 day post-operative persisted hypercoagulability after surgery for benign diseases: a prospective cohort study / J. Ulrych [et al.] // BMC Surg. – 2016. – Vol. 16. – P.16.
30. A comparison of bladder and ovarian function two years following hysterectomy or endometrial ablation / S. Bhattacharya [et al.] // Br. J. Obstet. Gynaecol. – 1996. – Vol. 103 (9). – P. 898-903.
31. A double-blind randomised controlled trial on the effect of dehydroepiandrosterone on ovarian reserve markers, ovarian response and number of oocytes in anticipated

- normal ovarian responders / T. Yeung [et al.] // *BJOG*. – 2016. – Vol. 123 (7). – P. 1097-1105.
32. A meta-analysis of dehydroepiandrosterone supplementation among women with diminished ovarian reserve undergoing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection / J. Li [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2015. – Vol. 131 (3). – P. 240-245.
 33. A multicentre randomized controlled trial of expectant management versus IVF in women with Fallopian tube patency / E.G. Hughes [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2004. – Vol. 19 (5). – P. 1105-1109.
 34. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause / K.R. Hansen [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2008. – Vol. 23 (3). – P. 699-708.
 35. A novel “delayed start” protocol with gnrh antagonist improves outcomes in poor responders / H. Cakmak [et al.] // *Fertil Steril.* – 2014. – Vol. 101 (5). – P. 1308-1314.
 36. A prospective randomized clinical trial comparing an individual dose of recombinant FSH based on predictive factors versus a 'standard' dose of 150 IU/day in 'standard' patients undergoing IVF/ICSI treatment / B. Popovic-Todorovic [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2003. – Vol. 18 (11). – P. 2275-2282.
 37. A prospective, comparative analysis of anti-Mullerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation / K. Jayaprakasan [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 93 (3). – P. 855-864.
 38. A randomized trial of oral DHEA treatment for sexual function, well-being, and menopausal symptoms in postmenopausal women with low libido / M. Panjari [et al.] // *J. Sex. Med.* – 2009. – Vol. 6 (9). – P. 2579-2590.
 39. A systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials of DHEA treatment effects on quality of life in women with adrenal insufficiency / A.A. Alkatib [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 94 (10). – P. 3676-3681.
 40. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome / F.J. Broekmans [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2006. – Vol. 12 (6). – P. 685-718.
 41. Abrao, M.S. Anatomical causes of female infertility and their management / M.S. Abrao, L. Muzii, R. Marana // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2013. – Vol. 123 (Suppl. 2). – P. S18-24.
 42. Adrenal Androgens and Aging. Endotext [Electronic Resource] / K. Lois [et al.] // L.J. De Groot [et al.]. – South Dartmouth (MA): MDText.com. – 2000 (Updated 2014). – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279006>.
 43. Advanced reproductive age and fertility / L. Kimberly [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2012. – Vol. 117 (1). – P. 95-102.
 44. Age at menarche in Korean adolescents: trends and influencing factors / M.H. Lee [et al.] // *Reprod. Health.* – 2016. – Vol. 13. – P. 121.
 45. Age, independent from ovarian reserve status, is the main prognostic factor in natural cycle in vitro fertilization / I. González-Foruria [et al.] // *Fertil Steril.* – 2016. – Vol. 106 (2). – P. 342-347.e2.

46. Al-Azzawi, F. Hormonal changes during menopause / F. Al-Azzawi, S. Palacios // *Maturitas*. – 2009. – Vol. 63 (2). – P. 135-137.
47. Alterations in homeostasis after open surgery. A prospective randomized study / T. Dedej [et al.] // *G. Chir.* – 2013. – Vol. 34(7-8). – P. 202-209.
48. Amanvermez, R. An Update on Ovarian Aging and Ovarian Reserve Tests / R. Amanvermez, M. Tosun // *Int. J. Fertil. Steril.* – 2016. – Vol. 9 (4). – P. 411-415.
49. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarianhyperstimulation: a meta-analysis / S.L. Broer [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2011. – Vol. 17 (1). – P. 46-54.
50. AMH mutations with reduced in vitro bioactivity are related to premature ovarian insufficiency / B. Alvaro Mercadal [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2015. – Vol. 30 (5). – P. 1196-1202.
51. Androgens (dehydroepiandrosterone or testosterone) for women undergoing assisted reproduction / H.E. Nagels [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2015. – Vol. 11. – P. CD009749.
52. Anti-Mullerian hormone as a marker of ovarian reserve / K.P. Tremellen [et al.] // *Aust. NZ J Obstet. Gynaecol.* – 2005. – Vol. 45 (1). – P. 20-24.
53. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: Potential implications for initial and cyclic follicle recruitment / C. Weenen [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2004. – Vol. 10 (2). – P. 77-83.
54. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology / A. La Marca [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22 (3). – P. 766-771.
55. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging / A. de Vet [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 77 (2). – P. 357-362.
56. Anti-Mullerian Hormone: Above and Beyond Conventional Ovarian Reserve Markers // Z. Jamil // *Dis. Markers*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 5246217.
57. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications / S.L. Broer [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2014. – Vol. 20 (5). – P. 688-701.
58. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception / S.M. Nelson [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24 (4). – P. 867-875.
59. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level / D.J. Hendriks [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2005. – Vol. 83 (2). – P. 291-301.
60. Assessment of ovarian reserve using anti-Müllerian hormone levels in benign gynecologic conditions and surgical interventions: a systematic narrative review / A. Iwase [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 12. – P. 125.
61. Assessment of Questionnaire Measuring Quality of Life in Menopausal Women: A Systematic Review / E. Jenabi [et al.] // *Oman Med. J.* – 2015. – Vol. 30 (3). – P. 151-156.
62. Assisted Reproductive Technology 2014 (Fertility Clinic Success Rates Report) [Electronic Resource] // CDC, ASRM, SART. – Atlanta (GA): US Dept of Health

- and Human Services. – 2016. – URL: <ftp://ftp.cdc.gov/pub/Publications/art/ART-2014-Clinic-Report-Full.pdf>.
63. Association between history of abdominopelvic surgery and tubal pathology / O. Famurewa [et al.] // *Afr. Health Sci.* – 2013. – Vol. 13 (2). – P. 441-446.
 64. Association between Number of Formed Embryos, Embryo Morphology and Clinical Pregnancy Rate after Intracytoplasmic Sperm Injection / C.M. Luz [et al.] // *Rev. Bras. Gynecol. Obstet.* – 2016. – Vol. 38 (9). – P. 465-470.
 65. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles / S.K. Sunkara [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26 (7). – P. 1768-1774.
 66. Association between uterine leiomyoma and metabolic syndrome in parous premenopausal women: A case-control study / Y.J. Tak [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2016. – Vol. 95 (46). – P. e5325.
 67. Association of number of retrieved oocytes with live birth rate and birth weight: an analysis of 231,815 cycles of in vitro fertilization / V.L. Baker [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2015. – Vol. 103 (4). – P. 931-938. e2.
 68. Association of ovary-sparing hysterectomy with ovarian reserve / E.C. Trabuco [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 127 (5). – P. 819-827.
 69. Atalay, M.A. Change in the ovarian environment after hysterectomy with bilateral salpingectomy: is it the technique or surgery itself? / M.A. Atalay, B. Cetinkaya Demir, K. Ozerkan // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2016. – Vol. 204. – P. 57-61.
 70. Atlas of human embryology: from oocytes to preimplantation embryos / M.C. Magli [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2012. – Vol. 27 (Suppl. 1). – P. i1-i94.
 71. Avoiding OHSS: Controlled Ovarian Low-Dose Stimulation in Women with PCOS / D. Fischer [et al.] // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 2016. – Vol. 76 (6). – P. 718-726.
 72. Bachmann, G.A. Androgen cotherapy in menopause: evolving benefits and challenges / G.A. Bachmann // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1999. – Vol. 180 (3 Pt. 2). – P. S308-11.
 73. Back to the basics of ovarian aging: a population-based study on longitudinal anti-Müllerian hormone decline / A.C. de Kat [et al.] // *BMC Med.* – 2016. – Vol. 14 (1). – P. 151.
 74. Balaban, B. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting / B. Balaban, C. Magli // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26 (6). – P. 1270-1283.
 75. Barad, D.H. Effect of dehydroepiandrosterone on oocyte and embryo yields, embryo grade and cell number in IVF / D.H. Barad, N. Gleicher // *Hum. Reprod.* – 2006. – Vol. 21 (11). – P. 2845-2849.
 76. Barad, D.H. Update on the use of dehydroepiandrosterone supplementation among women with diminished ovarian function / D.H. Barad, H. Brill, N. Gleicher // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2007. – Vol. 24 (12). – P. 629-634.
 77. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles / T. Ebner [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2006. – Vol. 21 (8). – P. 2022-2026.
 78. Baskett, T.F. Hysterectomy: evolution and trends / T.F. Baskett // *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynecol.* – 2005. – Vol. 19 (3). – P. 295-305.

79. Biology and biotechnology of follicle development / G.A. Palma [et al.] // *Sci. World J.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 938138.
80. Blastocyst culture selects for euploid embryos: comparison of blastomere and trophectoderm biopsies / A. Adler [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2014. – Vol. 28 (4). – P. 485-491.
81. Blastulation rates decline in a linear fashion from euploid to aneuploid embryos with single versus multiple chromosomal errors / M. Vega [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2014. – Vol. 102 (2). – P. 394-398.
82. Blood flow changes in the ovarian and uterine arteries during the normal menstrual cycle / S.L. Tan [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1996. – Vol. 175 (3 Pt. 1). – P. 625-631.
83. BMP15 suppresses progesterone production by down-regulating StAR via ALK3 in human granulosa cells / H.M. Chang [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 27 (12). – P. 2093-2104.
84. Bontis, J.N. Laparoscopic management of hydrosalpinx / J.N. Bontis, T.D. Theodoridis // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 1092. – P. 199-210.
85. Brandsborg, B. Pain following hysterectomy: epidemiological and clinical aspects / B. Brandsborg // *Dan. Med. J.* – 2012. – Vol. 59 (1). – P. B4374.
86. Brinton, R.D. Minireview: Translational Animal Models of Human Menopause: Challenges and Emerging Opportunities / R.D. Brinton // *Endocrinology.* – 2012. – Vol. 153 (8). – P. 3571-3578.
87. British Fertility Society Policy and Practice Committee: adjuvants in IVF: evidence for good clinical practice / L.G. Nardo [et al.] // *Hum. Fertil. (Camb).* – 2015. – Vol. 18(1). – P. 2-15.
88. Broekmans, F.J. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences / F.J. Broekmans, M.R. Soules, B.C. Fauser // *Endocr. Rev.* – 2009. – Vol. 30 (5). – P. 465-493.
89. Brosens I. Uterine Leiomyomata: Pathogenesis and Management / I. Brosens. – Abingdon, England, Informa Healthcare / Taylor & Francis, 2006. – 326 p.
90. Bukovsky, A. Oogenesis in cultures derived from adult human ovaries / A. Bukovsky, M. Svetlikova, M.R. Caudle // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 3. – P. 17.
91. Burden of adhesions in abdominal and pelvic surgery: systematic review and meta-analysis / R.P. ten Broek [et al.] // *BMJ.* – 2013. – Vol. 347. – P. f5588.
92. Burnett, A.M. Laboratory-confirmed gonorrhea and/or chlamydia rates in clinically diagnosed pelvic inflammatory disease and cervicitis / A.M. Burnett, C.P. Anderson, M.D. Zwank // *Am. J. Emerg. Med.* – 2012. – Vol. 30 (7). – P. 1114-1117.
93. Can you ever collect too many oocytes? / R. Briggs [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2015. – Vol. 30 (1). – P. 81-87.
94. Chalmers, C. Does hysterectomy in a premenopausal woman affect ovarian function? / C. Chalmers // *Med. Hypotheses* – 1996. – Vol. 46 (6). – P. 573-575.
95. Chan, C.C. Ovarian changes after abdominal hysterectomy for benign conditions / C.C. Chan, E.H. Ng, P.C. Ho // *J. Soc. Gynecol. Investig.* – 2005. – Vol. 12 (1). – P. 54-57.

96. Chang, H. Genetic analysis of the mammalian transforming growth factor-beta superfamily / H. Chang, C.W. Brown, M.M. Matzuk // *Endocr. Rev.* – 2002. – Vol. 23 (6). – P. 787-823.
97. Change in the ovarian environment after hysterectomy as assessed by ovarian arterial blood flow indices and serum anti-Müllerian hormone levels / Lee D.Y. [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2010. – Vol. 151 (1). – P. 82-85.
98. Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with recurrent miscarriage as confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment / E. Cicinelli [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2014. – Vol. 21 (5). – P. 640-647.
99. Chronic inflammation-related DNA damage response: a driving force of gastric cardia carcinogenesis / R. Lin [et al.] // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6 (5). – P. 2856-2864.
100. Chronic Pelvic Inflammation Diminished Ovarian Reserve as Indicated by Serum Anti Müllerian Hormone / L. Cui [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11 (6). – P. e0156130.
101. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology / D. Glujovsky [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2016. – Vol. 30 (6). – P. CD002118.
102. Clinical review: The benefits and harms of systemic dehydroepiandrosterone (DHEA) in postmenopausal women with normal adrenal function: a systematic review and meta-analysis / T. Elraiyah [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 99 (10). – P. 3536-3542.
103. Common uses and cited complications of energy in surgery / G. Sankaranarayanan [et al.] // *Surg. Endosc.* – 2013. – Vol. 27 (9). – P. 3056-3072.
104. Comparative immunohistochemical distribution of connexin 37 and connexin 43 throughout folliculogenesis in the bovine ovary / F. Nuttinck [et al.] // *Mol. Reprod. Dev.* – 2000. – Vol. 57 (1). – P. 60-66.
105. Comparative study on induction and effects of surgical menopause in a female rat model: a prospective case control study / F.M. Moiety [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8 (6). – P. 9403-9411.
106. Comparing the effect of laparoscopic supracervical and total hysterectomy for uterine fibroids on ovarian reserve by assessing serum anti-mullerian hormone levels: a prospective cohort study / H. Yuan [et al.] // *J. Minim. Invasive. Gynecol.* – 2015. – Vol. 22 (4). – P. 637-641.
107. Comparison of conventional IVF versus ICSI in non-male factor, normoresponder patients Iran / M. Eftekhar [et al.] // *J. Reprod. Med.* – 2012. – Vol. 10 (2). – P. 131-136.
108. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts / J. van Disseldorp [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25 (1). – P. 221-227.
109. Comparison of serum anti-Mullerian hormone levels following hysterectomy and myomectomy for benign gynaecological conditions / H.Y. Wang [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2013. – Vol. 171 (2). – P. 368-371.

110. Constitutive and conditional cadherin expression in cultured human ovarian surface epithelium: influence of family history of ovarian cancer / A.S. Wong [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 1999. – Vol. 81 (2). – P. 180-188.
111. Controlled clinical trial assessing the effect of laparoscopic uterine arterial occlusion on ovarian reserve / X. Qu [et al.] // *J. Minim. Invasive Gynecol.* – 2010. – Vol. 17 (1). – P. 47-52.
112. Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injury / D. Meiorow [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22 (6). – P. 1626-1633.
113. Cox, L. Primary ovarian insufficiency: an update / L. Cox, J.H. Liu // *Int. J. Womens Health.* – 2014. – Vol. 6. – P. 235-243.
114. Cray, C. Acute phase response in animals: a review / C. Cray, J. Zaias, N.H. Altman // *Comp. Med.* – 2009. – Vol. 59 (6). – P. 517-526.
115. CXCR4/SDF1 interaction inhibits the primordial to primary follicle transition in the neonatal mouse ovary / J.E. Holt [et al.] // *Dev. Biol.* – 2006. – Vol. 293 (2). – P. 449-460.
116. Daan, N.M. Menopause prediction and potential implications / N.M. Daan, B.C. Fauser // *Maturitas.* – 2015. – Vol. 82 (3). – P. 257-265.
117. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome / D.B. Seifer [et al.] // *Fertil. Steril.* – 1997. – Vol. 67 (1). – P. 110-4.
118. De Medeiros, S.F. Abnormal bleeding during menopause hormone therapy: insights for clinical management / S.F. de Medeiros, M.M. Yamamoto, J.S. Barbosa // *Clin. Med. Insights Womens Health.* – 2013. – Vol. 6. – P. 13-24.
119. Dechaud, H. What effect does hydrosalpinx have on assisted reproduction? The role of salpingectomy remains controversial / H. Dechaud, B. Hedon // *Hum. Reprod.* – 2000. – Vol. 15 (2). – P. 234-235.
120. Definition by FSH, AMH and embryo numbers of good-, intermediate- and poor-prognosis patients suggests previously unknown IVF outcome-determining factor associated with AMH / N. Gleicher // *J. Transl. Med.* – 2016. – Vol. 14 (1). – P. 172.
121. Dehydroepiandrosterone (DHEA): hypes and hopes / K. Rutkowski [et al.] // *Drugs.* – 2014. – Vol. 74 (11). – P. 1195-1207.
122. Dehydroepiandrosterone for women in the peri- or postmenopausal phase / C.S. Scheffers [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2015. – Vol. 1. – P. CD011066.
123. Dehydroepiandrosterone supplementation augments ovarian stimulation in poor responders: a case series / P.R. Casson [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2000. – Vol. 15 (10). – P. 2129-2132.
124. Dehydroepiandrosterone treatment in women with poor ovarian response undergoing IVF or ICSI: a systematic review and meta-analysis / M. Zhang [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2016. – Vol. 33 (8). – P. 981-991.
125. Demographic and medical consequences of the postponement of parenthood / L. Schmidt [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2012. – Vol. 18 (1). – P. 29-43.
126. Derniaux, E. Follow-up and counselling after pelvic inflammatory disease / E. Derniaux, M. Lucereau-Barbier, O. Graesslin // *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris).* – 2012. – Vol. 41 (8). – P. 922-929.

127. Detection, characterization, and spontaneous differentiation in vitro of very small embryonic-like putative stem cells in adult mammalian ovary / S. Parte [et al.] // *Stem. Cells Dev.* – 2011. – Vol. 20 (8). – P. 1451-1464.
128. Determination of menopausal status in women: the NHLBI-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study / B.D. Johnson [et al.] // *J. Womens Health (Larchmt).* – 2004. – Vol. 13 (8). – P. 872-887.
129. DNA damage and repair in human oocytes and embryos: a review / Y. Ménézo, B. Dale, M. Cohen // *Zygote.* – 2010. – Vol. 18 (4). – P. 357-365.
130. Does hysterectomy affect ovarian function? Histopathologic evaluation and serum FSH, inhibin A, and inhibin B levels in an experimental rat model / O.L. Tapisiz [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2008. – Vol. 140 (1). – P. 61-66.
131. Does intracytoplasmic sperm injection improve the fertilization rate and decrease the total fertilization failure rate in couples with well-defined unexplained infertility? A systematic review and meta-analysis / L.N. Johnson [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 100 (3). – P. 704-711.
132. Does premature luteinization or early surge of LH impair cycle outcome? Report of two successful outcomes / M. Sönmezer [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2009. – Vol. 26 (2-3). – P. 159-163.
133. Does salpingectomy have a deleterious impact on ovarian response in in vitro fertilization cycles? / S.H. Yoon [et al.] // *Fertil Steril.* – 2016. – Vol. 106 (5). – P. 1083-1092. e5.
134. Donnez, J. Uterine fibroid management: from the present to the future / J. Donnez, M.M. Dolmans // *Hum. Reprod. Update.* – 2016. – Vol. 22 (6). – P. 665-686.
135. Drilling: medical indications and surgical technique / C.K. Hueb [et al.] // *Rev. Assoc. Med. Bras.* – 2015. – Vol. 61 (6). – P. 530-535.
136. Dun, E.C. Tubal factor infertility: diagnosis and management in the era of assisted reproductive technology / E.C. Dun, C.H. Nezhat // *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* – 2012. – Vol. 39 (4). – P. 551-566.
137. Dysplastic changes in prophylactically removed Fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer / J.M. Piek [et al.] // *J. Pathol.* – 2001. – Vol. 195 (4). – P. 451-456.
138. Edson, M.A. The mammalian ovary from genesis to revelation / M.A. Edson, A.K. Nagaraja, M.M. Matzuk // *Endocr. Rev.* – 2009. – Vol. 30 (6). – P. 624-712.
139. Effect of 1-year, low-dose DHEA therapy on climacteric symptoms and female sexuality / A.R. Genazzani [et al.] // *Climacteric.* – 2011. – Vol. 14 (6). – P. 661-668.
140. Effect of body mass index and age on in vitro fertilization in polycystic ovary syndrome / M.N. Kalem [et al.] // *J. Turk. Ger. Gynecol. Assoc.* – 2016. – Vol. 17 (2). – P. 83-90.
141. Effect of dehydroepiandrosterone administration in Chinese women over 37 years undergoing assisted reproductive techniques / X. Liu [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2016. – Vol. 202. – P. 9-13.
142. Effect of hemostatic method on ovarian reserve following laparoscopic endometrioma excision; comparison of suture, hemostatic sealant, and bipolar

- dessication. A systematic review and meta-analysis / B. Ata [et al.] // *J. Minim. Invasive. Gynecol.* – 2015. – Vol. 22 (3). – P. 363-372.
143. Effect of hydrosalpinx on uterine and ovarian hemodynamics in women with tubal factor infertility / A. El-Mazny [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2016. – Vol. 199. – P. 55-59.
144. Effect of hysterectomy or LNG-IUS on serum inhibin B levels and ovarian blood flow / K.H. Halmesmäki [et al.] // *Maturitas.* – 2007. – Vol. 57 (3). – P. 279-285.
145. Effect of Hysterectomy With Ovarian Preservation on Ovarian Function / P.G. Moorman [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 118 (6). – P. 1271-1279.
146. Effect of intravaginal dehydroepiandrosterone (Prasterone) on libido and sexual dysfunction in postmenopausal women / F. Labrie [et al.] // *Menopause.* – 2009. – Vol. 16 (5). – P. 923-931.
147. Effect of salpingectomy, ovarian cystectomy and unilateral salpingo-oophorectomy on ovarian reserve / O. Rustamov [et al.] // *Gynecol. Surg.* – 2016. – Vol. 13. – P. 173-178.
148. Effect of single-dose methotrexate on ovarian reserve in women with ectopic pregnancy / I. Uyar [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 100 (5). – P. 1310-1313.
149. Effect of the removal of the Fallopian tube during hysterectomy on ovarian survival: the orphan ovary syndrome / I. Repasy [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2009. – Vol. 144 (1). – P. 64-67.
150. Effect of total abdominal hysterectomy on ovarian blood supply in women of reproductive age / E.A. Nahás [et al.] // *J. Ultrasound Med.* – 2005. – Vol. 24 (2). – P. 169-174.
151. Effectiveness of in vitro fertilization in women with previous tubal sterilization / E. Malacova [et al.] // *Contraception.* – 2015. – Vol. 91 (3). – P. 240-244.
152. Effects of combined estrogen/testosterone therapy on bone and body composition in oophorectomized women / A. Flöter [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 20 (3). – P. 155-160.
153. Effects of hysterectomy on ovarian morphology and serum FSH level in rats / S. Ozdamar [et al.] // *Maturitas.* – 2005. – Vol. 52 (1). – P. 60-64.
154. Effects of hysterectomy on ovulation and related ovarian functions in regular estrous cycle rats / M. Tanaka [et al.] // *Life Sci.* – 1994. – Vol. 55 (3). – P. 237-243.
155. Effects of treatment of ectopic pregnancy with methotrexate or salpingectomy in the subsequent IVF cycle / A. Wiser [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2013. – Vol. 26 (5). – P. 449-453.
156. Efficacy of dehydroepiandrosterone to improve ovarian response in women with diminished ovarian reserve: a meta-analysis / A. Narkwichean [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 11. – P. 44.
157. Endocrine features of menstrual cycles in middle and late reproductive age and the menopausal transition classified according to the Staging of Reproductive Aging Workshop (STRAW) staging system / G.E. Hale [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2007. – Vol. 92 (8). – P. 3060-3067.
158. Endometriosis: where are we and where are we going? / A.D. Greene [et al.] // *Reproduction.* – 2016. – Vol. 152 (3). – P. R63-78.

159. Engmann, L. GnRH agonist trigger for the induction of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF cycles: a SWOT analysis / L. Engmann, C. Benadiva, P. Humaidan // *Reprod. Biomed. Online.* – 2016. – Vol. 32 (3). – P. 274-285.
160. Erekson, E.A. Oophorectomy: the debate between ovarian conservation and elective oophorectomy / E.A. Erekson, D.K. Martin, E.S. Ratner // *Menopause.* – 2013. – Vol. 20 (1). – P. 110-114.
161. Erickson, G.F. The spatiotemporal expression pattern of the bone morphogenetic protein family in rat ovary cell types during the estrous cycle / G.F. Erickson, S. Shimasaki // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 1. – P. 9.
162. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria / A.P. Ferraretti [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26 (7). – P. 1616-1624.
163. Estrogen supplementation to progesterone as luteal phase support in patients undergoing in vitro fertilization: systematic review and meta-analysis / X.M. Zhang [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2015. – Vol. 94 (8). – P. e459.
164. Evaluation of basal estradiol levels in assisted reproductive technology cycles / J.L. Frattarelli [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2000. – Vol. 74 (3). – P. 518-524.
165. Evaluation of clinical effect of hysterectomy preserving the uterine artery / J. Wen [et al.] // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2006. – Vol. 41 (11). – P. 745-748.
166. Evaluation of the clinical value of simultaneous hysterectomy and bilateral salpingectomy in perimenopausal women / Q.H. Yi [et al.] // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2012. – Vol. 47 (2). – P. 110-114.
167. Examination of the ovarian reserve after generation of unilateral rudimentary uterine horns in rats / H. Toyganözü [et al.] // *Sci. World J.* – 2014. – Vol. 2014 – P. 918496.
168. Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging / S.D. Harlow [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 97 (4). – P. 1159-1168.
169. Executive summary: Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW). / M.R. Soules [et al.] // *Climacteric.* – 2001. – Vol. 4 (4). – P. 267-272.
170. Expected poor responders on the basis of an antral follicle count do not benefit from a higher starting dose of gonadotrophins in IVF treatment: a randomized controlled trial / E.R. Klinkert [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2005. – Vol. 20 (3). – P. 611-615.
171. Expression of ER α and PR in Various Morphological Patterns of Abnormal Uterine Bleeding-Endometrial causes in Reproductive Age Group / P. Singh [et al.] // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2016. – Vol. 10 (8). – P. EC06-9.
172. Extremities of body mass index and their association with pregnancy outcomes in women undergoing in vitro fertilization in the United States / J.F. Kawwass [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2016. – Vol. 106 (7). – P. 1742-1750.
173. Factors affecting oocyte quality: who is driving the follicle? / P. Mermillod [et al.] // *Reprod. Domest. Anim.* – 2008. – Vol. 43 (Suppl. 2). – P. 393-400.
174. Faddy, M.J. A mathematical model of follicle dynamics in the human ovary / M.J. Faddy, R.G. Gosden // *Hum. Reprod.* – 1995. – Vol. 10 (4). – P. 770-775.
175. Fan, M. Effect of salpingectomy on ovarian response to hyperstimulation during in vitro fertilization: a meta-analysis / M. Fan, L. Ma // *Fertil Steril.* – 2016. – Vol. 106 (2). – P. 322-329. e9.

176. Fanchin, R. Uterine dynamics: impact on the human reproduction process / R. Fanchin, J.M. Ayoubi // *Reprod. Biomed. Online.* – 2009. – Vol. 18 (Suppl. 2). – P. 57-62.
177. Fenton, A. Does routine gynecological surgery contribute to an early menopause? / A. Fenton, N. Panay // *Climacteric.* – 2012. – Vol. 15 (1). – P. 1-2.
178. Fenton, A.J. Premature ovarian insufficiency: Pathogenesis and management / A.J. Fenton // *J. Midlife Health.* – 2015. – Vol. 6 (4). – 147-153.
179. Ferenczy, A. Pathophysiology of endometrial bleeding / A. Ferenczy // *Maturitas.* – 2003. – Vol. 45 (1). – P. 1-14.
180. Fertility and ageing / D.T. Baird [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2005. – Vol. 11 (3). – P. 261-276.
181. Fertility of patients with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro fertilization by age / Y.I. Hwang [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2016. – Vol. 135 (1). – P. 91-95.
182. Fertilization and embryo quality of mature oocytes with specific morphological abnormalities / E.J. Yu [et al.] // *Clin. Exp. Reprod. Med.* – 2015. – Vol. 42 (4). – P. 156-162.
183. Finch, C.E. The menopause and aging, a comparative perspective / C.E. Finch // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 142. – P. 132–141.
184. Fitzharris, G. Granulosa cells regulate intracellular pH of the murine growing oocyte via gap junctions: development of independent homeostasis during oocyte growth / G. Fitzharris, J.M. Baltz // *Development.* – 2006. – Vol. 133 (4). – P. 591-599.
185. Follicle Online: an integrated database of follicle assembly, development and ovulation / J. Hua [et al.] // *Database (Oxford).* – 2015. – Vol. 2015. – P. bav036.
186. Follicular Cysts: A Single Sign and Different Diseases. A View from Comparative Medicine / H.H. Ortega [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2016. – Vol. 22 (36). – P. 5634-5645.
187. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve / A. Lass [et al.] // *Hum. Reprod.* – 1997. – Vol. 12 (5). – P. 1028-1031.
188. Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells / F. Matsuda [et al.] // *J. Reprod. Dev.* – 2012. – Vol. 58 (1). – P. 44-50.
189. Foxl2 disruption causes mouse ovarian failure by pervasive blockage of follicle development / M. Uda [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2004. – Vol. 13 (11). – P. 1171-1181.
190. Fracture risk and bone density of peri- and early postmenopausal women with uterine leiomyomas / K.M. Randell [et al.] // *Maturitas.* – 2006. – Vol. 53 (3). – P. 333-342.
191. GAPO syndrome: a new syndromic cause of premature ovarian insufficiency / C.L. Benetti-Pinto [et al.] // *Climacteric.* – 2016. – Vol. 19 (6). – P. 594-598.
192. Gardner, D.G. *Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology* / D.G. Gardner, D. Shoback. – London : McGraw Hill Higher Education, 2016. – 896 p.

193. Garrett, W.M. Expression of androgen receptors and steroidogenic enzymes in relation to follicular growth and atresia following ovulation in pigs / W.M. Garrett, H.D. Guthrie // *Biol. Reprod.* – 1996. – Vol. 55 (5). – P. 949-955.
194. Gelmann, E.P. Molecular biology of the androgen receptor / E.P. Gelmann // *J. Clin. Oncol.* – 2002. – Vol. 20 (13). – P. 3001-3015.
195. Gene expression differences induced by equimolar low doses of LH or hCG in combination with FSH in cultured mouse antral follicles / I. Segers [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 215 (2). – P. 269-280.
196. Genetically modified mouse models for premature ovarian failure (POF) / K. Jagarlamudi [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 315 (1-2). – P. 1-10.
197. Genetics of androgen metabolism in women with infertility and hypoandrogenism / A. Shohat-Tal [et al.] // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 11 (7). – P. 429-441.
198. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary / J. Johnson [et al.] // *Nature.* – 2004. – Vol. 428 (6979). – P. 145-150.
199. Gershon, E. Gap junctions in the ovary: expression, localization and function / E. Gershon, V. Plaks, N. Dekel // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 282 (1-2). – P. 18-25.
200. Ghazal, S. Oogonial stem cells: do they exist and may they have an impact on future fertility treatment? / S. Ghazal // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 25 (3). – P. 223-228.
201. Gilchrist, R.B. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality / R.B. Gilchrist, M. Lane, J.G. Thompson // *Hum. Reprod. Update.* – 2008. – Vol. 14 (2). – P. 159-177.
202. Gill, S. Physician Opinions Regarding Elective Bilateral Salpingectomy with Hysterectomy and for Sterilization / S. Gill, B. Mills // *J. Minim. Invasive Gynecol.* – 2013. – Vol. 20 (4). – P. 517-521.
203. Gillett, W.R. A scanning electron microscopic study of the human ovarian surface epithelium: characterization of two cell types / W.R. Gillett, A. Mitchell, P.R. Hurst // *Hum. Reprod.* – 1991. – Vol. 6 (5). – P. 645-650.
204. Gleicher, N. Anti-Müllerian hormone (AMH) defines, independent of age, low versus good live-birth chances in women with severely diminished ovarian reserve / N. Gleicher, A. Weghofer, D.H. Barad // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94 (7). – P. 2824-2827.
205. Gleicher, N. Defining ovarian reserve to better understand ovarian aging / N. Gleicher, A. Weghofer, D.H. Barad // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 23.
206. Gleicher, N. Dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation in diminished ovarian reserve (DOR) / N. Gleicher, D.H. Barad // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 67.
207. Gleicher, N. Discordances between follicle stimulating hormone (FSH) and anti-Müllerian hormone (AMH) in female infertility / N. Gleicher, A. Weghofer, D.H. Barad // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 8. – P. 64.
208. Gleicher, N. Randomised controlled trials on dehydroepiandrosterone supplementation in female infertility still not conclusive / N. Gleicher // *BJOG.* – 2016. – Vol. 123 (7). – P. 1106.

209. Gleicher, N. The role of androgens in follicle maturation and ovulation induction: friend or foe of infertility treatment? / N. Gleicher, A. Weghofer, D.H. Barad // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 116.
210. GnRH agonist for final oocyte maturation in GnRH antagonist co-treated IVF/ICSI treatment cycles: Systematic review and meta-analysis / M.A. Youssef [et al.] // *J. Adv. Res.* – 2015. – Vol. 6 (3). – P. 341-349.
211. Golditch, I.M. Lawson Tait: the forgotten gynecologist / I.M. Golditch // *Obstet. Gynecol.* – 2002. – Vol. 99 (1). – P. 152-156.
212. Gomel, V. The place of reconstructive tubal surgery in the era of assisted reproductive techniques / V. Gomel // *Reprod. Biomed. Online.* – 2015. – Vol. 31 (6). – P. 722-731.
213. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology / H.G. Al-Inany [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2016. – Vol. 4. – P. CD001750.
214. Gougeon, A. Human ovarian follicular development: from activation of resting follicles to preovulatory maturation / A. Gougeon // *Ann. Endocrinol (Paris).* – 2010. – Vol. 71 (3). – P. 132-143.
215. Gougeon, A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses / A. Gougeon // *Endocr. Rev.* – 1996. – Vol. 17 (2). – P. 121-155.
216. Green, K.A. Gynecologic health and disease in relation to the microbiome of the female reproductive tract / K.A. Green, S.M. Zarek, W.H. Catherino // *Fertil. Steril.* – 2015. – Vol. 104 (6). – P. 1351-1357.
217. Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep / J.L. Juengel [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2002. – Vol. 67 (6). – P. 1777-1789.
218. Grynnerup, A.G. Anti-Müllerian hormone levels in salpingectomized compared with nonsalpingectomized women with tubal factor infertility and women with unexplained infertility / A.G. Grynnerup, A. Lindhard, S. Sørensen // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2013. – Vol. 92 (11). – P. 1297-1303.
219. Gümen, A. Follicular cysts occur after a normal estradiol-induced GnRH/LH surge if the corpus hemorrhagicum is removed / A. Gümen, M.C. Wiltbank // *Reprod.* – 2005. – Vol. 129 (6). – P. 737-745.
220. Han, T.S. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease / T.S. Han, M.E. Lean // *J. RSM Cardiovasc. Dis.* – 2016. – Vol. 5. – P. 2048004016633371.
221. Hergovich, A. Mammalian Hippo signalling: a kinase network regulated by protein-protein interactions / A. Hergovich // *Biochem. Soc. Trans.* – 2012. – Vol. 40 (1). – P. 124-128.
222. Hernández-Angeles, C. Early menopause: A hazard to a woman's health / C. Hernández-Angeles, C. Castelo-Branco // *Indian J. Med. Res.* – 2016. – Vol. 143 (4). – P. 420-427.
223. High miscarriage rate in women submitted to Essure for hydrosalpinx before embryo transfer: a systematic review and meta-analysis / M.W. Barbosa [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 48 (5). P. 556-565.

224. Hillier, S.G. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis / S.G. Hillier // *Hum Reprod.* – 1994. – Vol. 9 (2). – P. 188-191.
225. Hillier, S.G. Role of androgens in follicle maturation and atresia / S.G. Hillier, M. Tetsuka // *Baillieres Clin. Obstet Gynaecol.* – 1997. – Vol. 11 (2). – P. 249-260.
226. Hornstein, M.D. State of the ART in the United States / M.D. Hornstein // *Reprod. Sci.* – 2016. – Vol. 23 (12). – P. 1630-1633.
227. How to define, diagnose and treat poor responders? Responses from a worldwide survey of IVF clinics / P. Patrizio [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2015. – Vol. 30 (6). – P. 581-592.
228. Huang-Doran, I. Genetic rodent models of obesity-associated ovarian dysfunction and subfertility: insights into polycystic ovary syndrome / I. Huang-Doran, S. Franks // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2016. – Vol. 7. – P. 53.
229. Hydrosalpinx and infertility: what about conservative surgical management? / O. Chanellles [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2011. – Vol. 159 (1). – P. 122-126.
230. Hydrosalpinx and IVF outcome: a prospective, randomized multicentre trial in Scandinavia on salpingectomy prior to IVF / A. Strandell [et al.] // *Hum. Reprod.* – 1999. – Vol. 14 (11). – P. 2762-2769.
231. Hyperandrogenism after menopause / M.C. Markopoulos [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 172 (2). – P. R79-91.
232. Hypoandrogenism in association with diminished functional ovarian reserve / N. Gleicher [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 28 (4). – P. 1084-1091.
233. Hysterectomy and ovarian function: levels of follicle stimulating hormone and incidence of menopausal symptoms are not affected by hysterectomy in women under age 45 years / C. Chalmers [et al.] // *Climacteric.* – 2002. – Vol. 5 (4). – P. 366-373.
234. Hysteroscopic hydrosalpinx occlusion with Essure device in IVF patients when salpingectomy or laparoscopy is contraindicated / R. Matorras [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2013. – Vol. 169 (1). – P. 54-59.
235. Iacovides, S. What we know about primary dysmenorrhea today: a critical review / S. Iacovides, I. Avidon, F.C. Baker // *Hum. Reprod. Update.* – 2015. – Vol. 21 (6). – P. 762-778.
236. Immunological pathogenesis of main age-related diseases and frailty: role of immunosenescence / P.O. Lang [et al.] // *Eur. Ger. Med.* – 2010. – Vol. 1 (2). – P. 112-121.
237. Impact of Body Mass Index on Outcomes of In Vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection Among Polycystic Ovarian Syndrome Patients / N. Cui [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2016. – Vol. 39 (5). – P. 1723-1734.
238. Impact of obesity on endometrial blood flow in women without polycystic ovarian syndrome during intracytoplasmic sperm injection / X. Zeng [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 11. – P. 57.
239. Impact of opportunistic salpingectomy on anti-Müllerian hormone in patients undergoing laparoscopic hysterectomy: a multicentre randomised controlled trial / T. Song [et al.] // *BJOG.* – 2016. – doi: 10.1111/1471-0528.14182.

240. Impact of Simple Ovarian Cysts on the Interpretation of Endometrial Thickness in Women with Postmenopausal Bleeding / A.O. Famuyide [et al.] // *J. Womens Health (Larchmt)*. – 2016. – Vol. 25 (9). – P. 889-896.
241. Impact of the age at menarche on body composition in adulthood: results from two birth cohort studies / S. Bubach [et al.] // *BMC Public Health*. – 2016. – Vol. 16 (1). – P. 1007.
242. In human granulosa cells from small antral follicles, androgen receptor mRNA and androgen levels in follicular fluid correlate with FSH receptor mRNA / M.E. Nielsen [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 17 (1). – P. 63-70.
243. Infectious morbidity after total laparoscopic hysterectomy: does concomitant salpingectomy make a difference? / F. Ghezzi [et al.] // *BJOG*. – 2009. – Vol. 116 (4). – P. 589-593.
244. Infertile women below the age of 40 have similar anti-Müllerian hormone levels and antral follicle count compared with women of the same age with no history of infertility / H.W. Hvidman [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2016. – Vol. 31 (5). – P. 1034-1045.
245. Inflammation-induced cell proliferation potentiates DNA damage-induced mutations in vivo / O. Kiraly [et al.] // *PLoS Genet.* – 2015. – Vol. 11 (2). – P. e1004901.
246. Influence of different operation modes in treatment of leiomyoma on reproductive endocrine hormone levels / X.J. Yang [et al.] // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. – 2007. – Vol. 87 (1). – P. 20-22.
247. Influence of various tubal surgeries to serum antimullerian hormone level and outcome of the subsequent IVF-ET treatment / L. Ni [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 29 (4). – P. 345-349.
248. Inhibin B and ovarian function after total abdominal hysterectomy in women of reproductive age / E.A. Nahás [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 17 (2). – P. 125-131.
249. Intercycle variability of ovarian reserve tests: results of a prospective randomized study / J. Kwee [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2004. – Vol. 19 (3). – P. 590-595.
250. Interobserver variation in ovarian measurements using transvaginalsonography / R.V. Higgins [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 1990. – Vol. 39 (1). – P. 69-71.
251. Interventions for 'poor responders' to controlled ovarian hyper stimulation (COH) in in-vitro fertilisation (IVF) / Z. Pandian [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2010. – Vol. 1. – P. CD004379.
252. Intra-cavitary uterine pathology in women with abnormal uterine bleeding: a prospective study of 1220 women / T. van den Bosch [et al.] // *Facts Views Vis. ObGyn.* – 2015. – Vol. 7 (1). – P. 17-24.
253. Intraovarian control of early folliculogenesis / A.J. Hsueh [et al.] // *Endocr. Rev.* – 2015. – Vol. 36 (1). – P. 1-24.
254. Intrauterine administration of human chorionic gonadotropin does not improve pregnancy and live birth rates independently of blastocyst quality: a randomised prospective study / B. Wirleitner [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 13. – P. 70.

255. Investigation of the effects of unilateral total salpingectomy on ovarian proliferating cell nuclear antigen and follicular reserve: experimental study / R. Atilgan [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2015. – Vol. 188. – P. 56-60.
256. Is the presence of an uncleaved embryo on day 3 a useful predictor of outcomes following day 5 transfer? / C.J. Men [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2015. – Vol. 32 (9). – P. 1379-1384.
257. Jacob, G.P. When helping hurts: the effect of surgical interventions on ovarian reserve / G.P. Jacob, A. Oraif, S. Power // *Hum. Fertil. (Camb).* – 2016. – Vol. 19 (1). – P. 3-8.
258. Janson, P.O. The acute effect of hysterectomy on ovarian blood flow / P.O. Janson, I. Jansson // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1977. – Vol. 127 (4). – P. 349-352.
259. Jin, M. An update on primary ovarian insufficiency / M. Jin, Y. Yu, H. Huang // *Sci. China Life Sci.* – 2012. – Vol. 55 (8). – P. 677-686.
260. Jirge, P.R. Ovarian reserve tests / P.R. Jirge // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2011. – Vol. 4 (3). – P. 108-113.
261. Jirge, P.R. Poor ovarian reserve / P.R. Jirge // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2016. – Vol. 9 (2). – P. 63-69.
262. Jones, K.T. Meiosis in oocytes: predisposition to aneuploidy and its increased incidence with age / K.T. Jones // *Hum. Reprod. Update.* – 2008. – Vol. 14 (2). – P. 143-158.
263. Jungheim, E.S. Best practices for controlled ovarian stimulation in IVF / E.S. Jungheim, M. Meyer, D.E. Broughton // *Semin. Reprod. Med.* – 2015. – Vol. 33 (2). – P. 77-82.
264. Keratinocyte growth factor and its receptor in human ovaries from fetuses, girls and women / R. Abir [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 15 (2). – P. 69-75.
265. Kermath, B.A. Neuroendocrine control of the transition to reproductive senescence: lessons learned from the female rodent model / B.A. Kermath, A.C. Gore // *Neuroendocrinology.* – 2012. – Vol. 96 (1). – P. 1-12.
266. Kim, J.Y. Control of ovarian primordial follicle activation / J.Y. Kim // *Clin. Exp. Reprod. Med.* – 2012. – Vol. 39 (1). – P. 10-14.
267. Koebele, S.V. Modeling menopause: The utility of rodents in translational behavioral endocrinology research / S.V. Koebele, H.A. Bimonte-Nelson // *Maturitas.* – 2016. – Vol. 87. – P. 5-17.
268. Kujjo, L.L. Ceramide and mitochondrial function in aging oocytes: J. oggling a new hypothesis and old players / L.L. Kujjo, G.I. Perez // *Reproduction.* – 2012. – Vol. 143 (1). – P. 1-10.
269. Kulkarni, M.R. Clinicopathological Study of Uterine Leiomyomas: A Multicentric Study in Rural Population / M.R. Kulkarni, I. Dutta, D.K. Dutta // *J. Obstet. Gynaecol. India.* – 2016. – Vol. 66 (Suppl. 1). – P. 412-416.
270. Kurjak, A. Ovarian senescence and its significance on uterine and ovarian perfusion / A. Kurjak, S. Kupesic // *Fert. Steril.* – 1995. – Vol. 64 (3). – P. 532-537.
271. Kwok, R. Ovarian biopsy has no role as a routine diagnostic test of ovarian reserve: a systematic review / R. Kwok, N.P. Johnson // *Reprod Biomed Online.* – 2012. – Vol. 24 (5). – P. 492-495.

272. Labrie, F. *Intracrinology* / F. Labrie // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 1991. – Vol. 78 (3). – P. C113-8.
273. Laparoscopic proximal tubal division can preserve ovarian reserve for infertility patients with hydrosalpinges / K. Nakagawa [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2008. – Vol. 34 (6). – P. 1037-1042.
274. Laparoscopy in trauma: An overview of complications and related topics / T. Kindel [et al.] // *Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci.* – 2015. – Vol. 5 (3). – P. 196-205.
275. Lee, D. *Tubal Surgery and Treatment of Infertility [Electronic Resource]* / D. Lee, P. Patton // *Glob. Libr. Women's Med.* – 2008 (Updated 2016). – URL: <https://www.glowm.com>.
276. Lei, L. Female mice lack adult germ-line stem cells but sustain oogenesis using stable primordial follicles / L. Lei, A.C. Spradling // *PNAS.* – 2013. – Vol. 110 (21). – P. 8585-8590.
277. Lenie, S. Functional AR signaling is evident in an in vitro mouse follicle culture bioassay that encompasses most stages of folliculogenesis / S. Lenie, J. Smits // *Biol. Reprod.* – 2009. – Vol. 80 (4). – P. 685-695.
278. Leptin suppresses anti-Mullerian hormone gene expression through the JAK2/STAT3 pathway in luteinized granulosa cells of women undergoing IVF / Z. Merhi [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 28 (6). – P. 1661-1669.
279. Leridon, H. A new estimate of permanent sterility by age: sterility defined as the inability to conceive / H. Leridon // *Popul. Stud. (Camb).* – 2008. – Vol. 62 (1). – P. 15-24.
280. Lessons from BRCA: the tubal fimbria emerges as an origin for pelvic serous cancer / C.P. Crum [et al.] // *Clin. Med. Res.* – 2007. – Vol. 5 (1). – P. 35-44.
281. Li, M. Androgen receptor's destiny in mammalian oocytes: a new hypothesis / M. Li, H. Schatten, Q.Y. Sun // *Mol. Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 15 (3). – P. 149-154.
282. Life-course origins of the ages at menarche and menopause / M.R. Forman [et al.] // *Adolesc. Health Med. Ther.* – 2013. – Vol. 4. – P. 1-21.
283. Limitations of follicle-stimulating hormone in assessing menopause status: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 1999-2000). / J.B. Henrich [et al.] // *Menopause.* – 2006. – Vol. 13 (2). – P. 171-177.
284. Long-term health consequences of premature or early menopause and considerations for management / S.S. Faubion [et al.] // *Climacteric.* – 2015. – Vol. 18 (4). – P. 483-491.
285. Loss of ovarian reserve after uterine artery embolization: a randomized comparison with hysterectomy / W.J. Hehenkamp [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22 (7). – P. 1996-2005.
286. Low dose dehydroepiandrosterone affects behavior in hypopituitary androgen-deficient women: a placebo-controlled trial / G. Johannsson [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2002. – Vol. 87 (5). – P. 2046-2052.
287. Luteal phase support for assisted reproduction cycles / M. van der Linden [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2015. – Vol. 7. – P. CD009154.
288. Maheshwari, A. Assessment of ovarian reserve – should we perform tests of ovarian reserve routinely? / A. Maheshwari, P. Fowler, S. Bhattacharya // *Hum. Reprod.* – 2006. – Vol. 21 (11). – P. 2729-2735.

289. Mais, V. Peritoneal adhesions after laparoscopic gastrointestinal surgery / V. Mais // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20 (17). – P. 4917-4925.
290. Management of endometrial precancers / C.L. Trimble [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2012. – Vol. 120 (5). – P. 1160-1175.
291. Management of hydrosalpinx before IVF: a literature review / S. D'Arpe [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2015. – Vol. 35 (6). – P. 547-550.
292. Marwah, A. Ergosteroids. VI. Metabolism of dehydroepiandrosterone by rat liver in vitro: a liquid chromatographic-mass spectrometric study / A. Marwah, P. Marwah, H. Lardy // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2002. – Vol. 767 (2). – P. 285-299.
293. Matzuk, M.M. The biology of infertility: research advances and clinical challenges / M.M. Matzuk, D.J. Lamb // *Nat. Med.* – 2008. – Vol. 14 (11). – P. 1197-1213.
294. McGee, E.A. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles / E.A. McGee, A.J. Hsueh // *Endocr. Rev.* – 2000. – Vol. 21 (2). – P. 200-214.
295. McKnight, K. Evaluation of Infertility, Ovulation Induction and Assisted Reproduction [Electronic Resource] / K. McKnight, L.J. McKenzie // L.J. De Groot [et al.]. – South Dartmouth (MA): MDText.com. – 2000 (Updated 2016). – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279018/>
296. Meng, X.H. Effect of salpingectomy on ovarian function / X.H. Meng, Y.M. Zhu // *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2006. – Vol. 35 (5). – P. 555-559.
297. Merrill, R.M. Hysterectomy surveillance in the United States, 1997 through 2005 / R.M. Merrill // *Med. Sci. Monit.* – 2008. – Vol. 14 (1). – P. CR24-31.
298. Mesen, T.B. Progesterone and the luteal phase: a requisite to reproduction / T.B. Mesen, S.L. Young // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* – 2015. – Vol. 42 (1). – P. 135-1351.
299. Miller, W.L. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders / W.L. Miller, R.J. Auchus // *Endocr. Rev.* – 2011. – Vol. 32 (1). – P. 81-151.
300. Miscarriage rates after dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation in women with diminished ovarian reserve: a case control study / N. Gleicher [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2009. – Vol. 7. – P. 108.
301. Mitchell, C. Pelvic inflammatory disease: current concepts in pathogenesis, diagnosis and treatment / C. Mitchell, M. Prabhu // *Infect. Dis. Clin. North Am.* – 2013. – Vol. 27 (4). – P. 793-809.
302. Mitra, S. Laparoscopic ovarian drilling: An alternative but not the ultimate in the management of polycystic ovary syndrome / S. Mitra, P.K. Nayak, S. Agrawal // *J. Nat. Sci. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 6 (1). – P. 40-48.
303. Modeling Age at Menopause Using Serum Concentration of Anti-Mullerian Hormone / F. Tehrani [et al.] // *J. Clinic. Endocrinol. & Metabolism.* – 2013. – Vol. 98 (2). – P. 729-735.
304. Modeling Perimenopause in Sprague-Dawley Rats by Chemical Manipulation of the Transition to Ovarian Failure / J.B. Frye [et al.] // *Comp. Med.* – 2012. – Vol. 62 (3). – P. 193-202.

305. Mohamed, K.A. Antimüllerian hormone and pituitary gland activity after prolonged down-regulation with goserelin acetate / K.A. Mohamed, W.A. Davies, H. Lashen // *Fertil Steril.* – 2006. – Vol. 86 (5). – P. 1515-1517.
306. Moragianni, V.A. Cumulative live-birth rates after assisted reproductive technology / V.A. Moragianni, A.S. Penzias // *Curr. Opin. Obstet Gynecol.* – 2010. – Vol. 22 (3). – P. 189-192.
307. Morin, N.A. Association of ovary-sparing hysterectomy with ovarian reserve / N.A. Morin // *Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 128 (3). – P. 655.
308. Mukhopadhaya, N. The hysterectomy story in the United Kingdom / N. Mukhopadhaya, I.T. Manyonda // *J. Midlife Health.* – 2013. – Vol. 4 (1). – P. 40-41.
309. Mullany, L.K. Minireview: animal models and mechanisms of ovarian cancer development / L.K. Mullany, J.S. Richards // *Endocrinology.* – 2012. – Vol. 153 (4). – P. 1585-1592.
310. Müllerian-inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture / M.P. Grossman [et al.] // *Fertil Steril.* – 2008. – Vol. 89 (Suppl. 5). – P. 1364-1370.
311. Munro, M.G. Classification of menstrual bleeding disorders / M.G. Munro // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2012. – Vol. 13 (4). – P. 225-234.
312. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 healthsurveys / M.N. Mascarenhas [et al.] // *PLoS Med.* – 2012. – Vol. 9 (12). – P. e1001356.
313. Nationwide rates of conversion from laparoscopic or vaginal hysterectomy to open abdominal hysterectomy in Germany / A. Stang, R.M. Merrill, O. Kuss // *Eur. J. Epidemiol.* – 2011. – Vol. 26 (2). – P. 125-133.
314. Nelson, S.M. Biomarkers of ovarian response: current and future applications / S.M. Nelson // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 99 (4). – P. 963-969.
315. Nelson, S.M. The ageing ovary and uterus: new biological insights / S.M. Nelson, E.E. Telfer, R.A. Anderson // *Hum. Reprod. Update.* – 2013. – Vol. 19 (1). – P. 67-83.
316. Nilsson, E.E. Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor and promotes primordial follicle development / E.E. Nilsson, M.K. Skinner // *Biol. Reprod.* – 2003. – Vol. 69 (4). – P. 1265-1272.
317. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse female reproductive system / D. Dixon [et al.] // *J. Toxicol. Pathol.* – 2014. – Vol. 27 (Suppl. 3–4). – P. 1S-107S.
318. Novy, M. Infections as a Cause of Infertility [Electronic Resource] / M. Novy, D. Eschenbach, S. Witkin // *Glob. libr. women's med.* – 2008 (Updated 2016). – URL: <https://www.glowm.com>.
319. Oatley, J. Of mice and (wo)men: purified oogonial stem cells from mouse and human ovaries / J. Oatley, P.A. Hunt // *Biol. Reprod.* – 2012. Vol. 86 (6). – P. 196.
320. Occult carcinoma in prophylactic oophorectomy specimens: prevalence and association with BRCA germline mutation status / T.J. Colgan [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2001. – Vol. 25 (10). – P. 1283-1289.

321. Off-label use of hormones as an antiaging strategy: a review / N. Samaras [et al.] // Clin. Interv. Aging. – 2014. – Vol. 9. – P. 1175-1186.
322. Olive, D.L. Fibroids and reproduction / D.L. Olive, E.A. Pritts // Semin. Reprod. Med. – 2010. – Vol. 28 (3). – P. 218-227.
323. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women / Y.A. White [et al.] // Nat. Med. – 2012. – Vol. 18 (3). – P. 413-421.
324. Oocyte maturation: gamete-somatic cells interactions, meiotic resumption, cytoskeletal dynamics and cytoplasmic reorganization / G. Coticchio // Hum. Reprod. Update. – 2015. – Vol. 21 (4). – P. 427-454.
325. Oocyte number as a predictor for ovarian hyperstimulation syndrome and live birth: an analysis of 256,381 in vitro fertilization cycles / R.G. Steward [et al.] // Fertil Steril. – 2014. – Vol. 101 (4). – P. 967-973.
326. Oocyte-derived R-spondin2 promotes ovarian follicle development / Y. Cheng [et al.] // FASEB J. – 2013. – Vol. 27 (6). – P. 2175-2184.
327. Oocyte-granulosa cell heterologous gap junctions are required for the coordination of nuclear and cytoplasmic meiotic competence / M.J. Carabatsos [et al.] // Dev. Biol. – 2000. – Vol. 226 (2). – P. 167-179.
328. Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool / P. Reddy [et al.] // Science. – 2008. – Vol. 319 (5863). – P. 611-613.
329. Oocyte-specific overexpression of mouse bone morphogenetic protein-15 leads to accelerated folliculogenesis and an early onset of acyclicity in transgenic mice / H.E. McMahon [et al.] // Endocrinology. – 2008. – Vol. 149 (6). – P. 2807-2815.
330. Opportunistic bilateral salpingectomy during gynaecological surgery for benign disease: A survey of current Australian practice / S. Kapurubandara [et al.] // Aust. NZJ. Obstet. Gynaecol. – 2015. – Vol. 55(6). – P. 606-611.
331. Orlando, J. Is superfertility associated with recurrent pregnancy loss? / J. Orlando, C. Coulam // Am. J. Reprod. Immunol. – 2014. – Vol. 72 (6). – P. 549-554.
332. Ouldamer, L. Fallopian tube prolapse after hysterectomy: a systematic review / L. Ouldamer, A. Caille, G. Body // PLoS One. – 2013. – Vol. 8 (10). – P. e76543.
333. Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles / P. May-Panloup [et al.] // Hum. Reprod. Update. – 2016. – Vol. 22 (6). – P. 725-743.
334. Ovarian failure in diabetic rat model: nuclear factor-kappaB, oxidative stress, and pentraxin-3 / O. Erbas [et al.] // Taiwan. J. Obstet. Gynecol. – 2014. – Vol. 53 (4). – P. 498-503.
335. Ovarian folliculogenesis / N. Rimon-Dahari [et al.] // Results Probl. Cell Differ. – 2016. – Vol. 58. – P. 167-190.
336. Ovarian function and ovarian blood supply following premenopausal abdominal hysterectomy / I.A. Abdelazim [et al.] // Prz Menopauzalny. – 2015. – Vol. 14 (4). – P. 238-242.
337. Ovarian histology and function after total abdominal hysterectomy / A.Z. Souza [et al.] // Obstet. Gynecol. – 1986. – Vol. 68 (6). – P. 847-849.
338. Ovarian reserve and subsequent assisted reproduction outcomes after methotrexate therapy for ectopic pregnancy or pregnancy of unknown location / M.J. Hill [et al.] // Fertil. Steril. – 2014. – Vol. 101 (2). – P. 413-419.

339. Ovarian response to gonadotropins after laparoscopic salpingectomy or the division of fallopian tubes for hydrosalpinges / T.A. Gelbaya [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2006. – Vol. 85 (5). – P. 1464-1468.
340. Ovarian response to gonadotropins after laparoscopic salpingectomy for ectopic pregnancy / W. Xi [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2012. – Vol. 116 (2). – P. 93-96.
341. Ovarian Stimulation Protocol in IVF: An Up-to-Date Review of the Literature / A. Pacchiarotti [et al.] // *Curr. Pharm. Biotechnol.* – 2016. – Vol. 17 (4). – P. 303-315.
342. Ovarian Surface Epithelium: Biology, Endocrinology, and Pathology / N. Auersperg [et al.] // *Endocrine Reviews.* – 2001. – Vol. 22 (2). – P. 255-288.
343. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization / J. Kwee [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2007. – Vol. 5. – P. 9.
344. Ozmen, B. Hydrosalpinx and IVF: assessment of treatments implemented prior to IVF / B. Ozmen, K. Diedrich, S. Al-Hasani // *Reprod. Biomed. Online.* – 2007. – Vol. 14 (2). – P. 235-241.
345. Panjari, M. DHEA for postmenopausal women: a review of the evidence / M. Panjari, S.R. Davis // *Maturitas.* – 2010. – Vol. 66 (2). – P. 172-179.
346. Parihar, M. Hydrosalpinx functional surgery or salpingectomy? The importance of hydrosalpinx fluid in assisted reproductive technologies / M. Parihar, A. Mirge, R. Hasabe // *J. Gynecol. Endosc. Surg.* – 2009. – Vol. 1 (1). – P. 12-16.
347. Parveen, N. Comparison of serum anti-mullerian hormone among fertile and infertile normal and diminished ovarian reserve groups / N. Parveen, D.E. Rehman, S. Jawed // *J. Pak. Med. Assoc.* – 2016. – Vol. 66 (9). – P. 1060-1063.
348. PDK1 signaling in oocytes controls reproductive aging and lifespan by manipulating the survival of primordial follicles / P. Reddy [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2009. – Vol. 18 (15). – P. 2813-2824.
349. Pelosi E. Genetics of the ovarian reserve / E. Pelosi, A. Forabosco, D. Schlessinger // *Front. Genet.* – 2015. – Vol. 6. – P. 308.
350. Pelvic inflammatory disease and salpingitis: incidence of primary and repeat episodes in England / M.J. Price [et al.] // *Epidemiol. Infect.* – 2017. – Vol. 145 (1). – P. 208-215.
351. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis / L.F. Bancsi [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2003. – Vol. 79 (5). – P. 1091-1100.
352. Positive selection in bone morphogenetic protein 15 targets a natural mutation associated with primary ovarian insufficiency in human / S. Auclair [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8(10). – P. e78199.
353. Potential benefit of dehydroepiandrosterone supplementation for infertile but not poor responder patients in a IVF program / M. Tartagni [et al.] // *Minerva Ginecol.* – 2015. – Vol. 67 (1). – P. 7-12.
354. Prediction models in in vitro fertilization; where are we? A mini review / L. van Loendersloot // *J. Adv. Res.* – 2014. – Vol. 5 (3). – P. 295-301.

355. Predictive diagnosis of endometrial hyperplasia and personalized therapeutic strategy in women of fertile age / V.M. Goncharenko [et al.] // *EPMA J.* – 2013. – Vol. 4 (1). – P. 24.
356. Predictors of chronic pelvic pain in an urban population of women with symptoms and signs of pelvic inflammatory disease / C.L. Haggerty [et al.] // *Sex. Transm. Dis.* – 2005. – Vol. 32 (5). – P. 293-299.
357. Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: a meta-analysis of published comparative studies / E. Camus [et al.] // *Hum. Reprod.* – 1999. – Vol. 14 (5). – P. 1243-1249.
358. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome / E. Bosch [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2003. – Vol. 80 (6). – P. 1444-1449.
359. Premature ovarian failure: morphological and ultrastructural aspects / M.A. Haidar [et al.] // *J. Sao. Paulo. Med.* – 1994. – Vol. 112 (2). – P. 534-538.
360. Premature ovarian insufficiency: from pathogenesis to clinical management / S. Luisi [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2015. – Vol. 38 (6). – P. 597-603.
361. Premature ovarian insufficiency: the context of long-term effects / A. Podfigurna-Stopa [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2016. – Vol. 39 (9). – P. 983-990.
362. Price, J.C. Granulosa cells from emerged antral follicles of the bovine ovary initiate inflammation in response to bacterial pathogen-associated molecular patterns via Toll-like receptor pathways / J.C. Price, I.M. Sheldon // *Biol. Reprod.* – 2013. – Vol. 89 (5). – P. 119.
363. Prior, J.C. Perimenopause: the complex endocrinology of the menopausal transition / J.C. Prior // *Endocr. Rev.* – 1998. – Vol. 19 (4). – P. 397-428.
364. Prior, J.C. The endocrinology of perimenopause: need for a paradigm shift / J.C. Prior, C.L. Hitchcock // *Front. Biosci. (Schol Ed).* – 2011. – Vol. 3. – P. 474-486.
365. Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries / K. Zou [et al.] // *Nat. Cell Biol.* – 2009. – Vol. 11 (5). – P. 631-636.
366. Progesterone and ovulation across stages of the transition to menopause / K.A. O'Connor [et al.] // *Menopause.* – 2009. – Vol. 16 (6). – P. 1178-1187.
367. Progress in understanding human ovarian folliculogenesis and its implications in assisted reproduction / D.Z. Yang [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2013. – Vol. 30 (2). – P. 213-219.
368. Prophylactic bilateral salpingectomy (PBS) to reduce ovarian cancer risk incorporated in standard premenopausal hysterectomy: complications and reoperation rate / J. Vorwerk [et al.] // *Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 140 (5). – P. 859-865.
369. Prophylactic salpingectomy in premenopausal low-risk women for ovarian cancer: primum non nocere / M. Morelli [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2013. – Vol. 129 (3). – P. 448-451.
370. Protective effects of honokiol on ischemia/reperfusion injury of rat ovary: an experimental study / S. Yaman Tunc [et al.] // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2016. – Vol. 10. – P. 1077-1083.

371. Prough, R.A. Novel mechanisms for DHEA action / R.A. Prough, B.J. Clark, C.M. Klinge // *Mol. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 56 (3). – P. R139-55.
372. Qin, F. The Effect of Salpingectomy on Ovarian Reserve and Ovarian Function / F. Qin, D.F. Du, X.L. Li // *Obstet. Gynecol. Surv.* – 2016. – Vol. 71 (6). – P. 369-376.
373. Qin, J.C. The effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation on women with diminished ovarian reserve (DOR) in IVF cycle: Evidence from a meta-analysis / J.C. Qin, L. Fan, A.P. Qin // *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)*. – 2016. – doi: 10.1016/j.jgyn.2016.01.002.
374. Radestad, A.F. Testosterone treatment in women – an overview / A.F. Radestad // *Cur. Wom. Heal. Rev.* – 2009. – Vol. 5 (1). – P. 29-43.
375. Radical fimbriectomy: a reasonable temporary risk-reducing surgery for selected women with a germ line mutation of BRCA 1 or 2 genes? Rationale and preliminary development / E. Leblanc [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2011. – Vol. 121 (3). – P. 472-476.
376. Re, R.N. Thirty years of intracrinology / R.N. Re // *Ochsner J.* – 2014. – Vol. 14 (4). – P. 673-680.
377. Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models / S. Fabre [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 4. – P. 20.
378. Relationship between salivary cortisol and progesterone levels in humans / M.M. Wirth [et al.] // *Biol. Psychol.* – 2007. – Vol. 74 (1). – P. 104-107.
379. Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity, and mitochondrial function in men / N. Pitteloud [et al.] // *Diabetes Care.* – 2005. – Vol. 28 (7). – P. 1636-1642.
380. Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF program / C. Gnoth [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2008. – Vol. 23 (6). – P. 1359-1365.
381. Renehan, A.G. Obesity as an Avoidable Cause of Cancer (Attributable Risks) / A.G. Renehan, I. Soerjomataram // *Recent. Results Cancer. Res.* – 2016. – Vol. 208. – P. 243-256.
382. Rescue of oogenesis in Cx37-null mutant mice by oocyte-specific replacement with Cx43 / T.Y. Li [et al.] // *J. Cell. Sci.* – 2007. – Vol. 120 (Pt 23). – P. 4117-4125.
383. Retrospective analysis of 1217 IVF cycles in women aged 40 years and older / A. Tsafirir [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2007. – Vol. 14 (3). – P. 348-355.
384. Rivest, S. The role of corticotropin-releasing factor and interleukin-1 in the regulation of neurons controlling reproductive functions / S. Rivest, C. Rivier // *Endocr. Rev.* – 1995. – Vol. 16 (2). – P. 177-199.
385. Rodriguez, M. Surgical Menopause / M. Rodriguez, D. Shoupe // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* – 2015. – Vol. 44 (3). – P. 531-542.
386. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction / S. Dupont [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol. 474 (7350). – P. 179-183.
387. Salmon, N.A. Oocyte regulation of anti-Mullerian hormone expression in granulosa cells during ovarian follicle development in mice / N.A. Salmon, A.H. Handyside, I.M. Joyce // *Dev. Biol.* – 2004. – Vol. 266 (1). – P. 201-208.
388. Salpingectomy before assisted reproductive technologies: a systematic literature review / M. Noventa [et al.] // *J. Ovarian. Res.* – 2016. – Vol. 9 (1). – P. 74.

389. Salpingo-oophorectomy at the Time of Benign Hysterectomy: A Systematic Review / E.C. Evans [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 128 (3). – P. 476-485.
390. Sato, E. Intraovarian control of selective follicular growth and induction of oocyte maturation in mammals / E. Sato // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* – 2015. – Vol. 91 (3). – P. 76-91.
391. Schenberg, T. Prophylactic bilateral salpingectomy as a prevention strategy in women at high-risk of ovarian cancer: a mini-review / T. Schenberg, G. Mitchell // *Front. Oncol.* – 2014. – Vol. 4. – P. 21.
392. Seifer, D.B. Is AMH a regulator of follicular atresia? / D.B. Seifer, Z. Merhi // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2014. – Vol. 31 (11). – P. 1403-1407.
393. Selective modulation of genomic and nongenomic androgen responses by androgen receptor ligands / L.B. Lutz [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 17 (6). – P. 1106-1116.
394. Sen, A. Granulosa cell-specific androgen receptors are critical regulators of ovarian development and function / A. Sen, S.R. Hammes // *Mol. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 24 (7). – P. 1393-1403.
395. Serum anti-Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles / T.H. Lee [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2008. – Vol. 23 (1). – P. 160-167.
396. Serum anti-Müllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: A longitudinal study / I.A. Van Rooij [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2005. – Vol. 83 (4). – P. 979-987.
397. Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids / I. Streuli [et al.] // *Fertil Steril.* – 2008. – Vol. 90 (2). – P. 395-400.
398. Sezgin, H. Disability, psychiatric symptoms, and quality of life in infertile women: a cross-sectional study in Turkey / H. Sezgin, C. Hocaoglu, E.S. Guvendag-Guven // *Shanghai Arch Psychiatry.* – 2016. – Vol. 28 (2). – P. 86-94.
399. Shah, A.A. Contemporary Concepts in Managing Menorrhagia [Electronic Resource] / A.A. Shah, D.A. Grainger // *Med. Gen. Med.* – 1999. – Vol. 1(1). – URL: <http://www.medscape.com/viewarticle/408831>.
400. Sharara, F.I. Assessment of ovarian reserve. Is there still a role for ovarian biopsy? First do no harm! / F.I. Sharara, R.T. Scott // *Hum. Reprod.* – 2004. – Vol. 19 (3). – P. 470-471.
401. Sharara, F.I. The role of hydrosalpinx in IVF: are we getting closer to an answer? / F.I. Sharara // *Fertil. Steril.* – 1999. – Vol. 72 (3). – P. 567-568.
402. Short-term effects of salpingectomy during laparoscopic hysterectomy on ovarian reserve: a pilot randomized controlled trial / A.D. Findley [et al.] // *Fertil Steril.* – 2013. – Vol. 100 (6). – P. 1704-1708.
403. Significance of ovarian histology in the management of patients presenting a premature ovarian failure / N. Massin [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2004. – Vol. 19 (11). – P. 2555-2560.
404. Sills, E.S. Ovarian reserve screening in infertility: practical applications and theoretical directions for research / E.S. Sills, M.M. Alper, A.P. Walsh // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2009. – Vol. 146 (1). – P. 30-36.

405. Skinner, M.K. Regulation of primordial follicle assembly and development / M.K. Skinner // *Hum. Reprod. Update.* – 2005. – Vol. 11 (5). – P. 461-471.
406. Smoley, B.A. Natural family planning / B.A. Smoley, C.M. Robinson // *Am. Fam. Physician.* – 2012. – Vol. 86 (10). – P. 924-928.
407. Spanish consensus on premature menopause / N. Mendoza [et al.] // *Maturitas.* – 2015. – Vol. 80 (2). – P. 220-225.
408. Strandell, A. Why does hydrosalpinx reduce fertility. The importance of hydrosalpinx fluid? / A. Strandell, A. Lindhard // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17 (5). – P. 1141-1145.
409. Strong Association between endometriosis and symptomatic leiomyomas / C. Nezhat [et al.] // *JSLs.* – 2016. – Vol. 20 (3). – P. pii: e2016.00053.
410. Structural changes and cell properties of human ovarian surface epithelium in ovarian pathophysiology / H. Okamura [et al.] // *Microsc. Res. Tech.* – 2006. – Vol. 69 (6). – P. 469-481.
411. Study on the vaginal smear of rats submitted to autologous ovarian transplant: impact of remote ischemic preconditioning / L.L. Damous [et al.] // *Acta Cir. Bras.* – 2009. – Vol. 24 (5). – P. 387-392.
412. Study origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human and rat ovaries / A. Bukovsky [et al.] // *Methods Mol Biol.* – 2008. – Vol. 450. – P. 233-265.
413. Sükür, Y.E. Ovarian aging and premature ovarian failure / Y.E. Sükür, I.B. Kıvançlı, B. Ozmen // *Turk. Ger. Gynecol. Assoc.* – 2014. – Vol. 15 (3) – P. 190-196.
414. Sullivan, S.D. Hormone replacement therapy in young women with primary ovarian insufficiency and early menopause / S.D. Sullivan, P.M. Sarrel, L.M. Nelson // *Fertil. Steril.* – 2016. – Vol. 106 (7). – P. 1588-1599.
415. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a / D.H. Castrillon [et al.] // *Science.* – 2003. – Vol. 301 (5630). – P. 215-218.
416. Surgery for tubal infertility / Z. Pandian [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2008. – Vol. 16 (3). – P. CD006415.
417. Surgical excision of endometriomas and ovarian reserve: a systematic review on serum antimüllerian hormone level modifications / E. Somigliana [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98 (6). – P. 1531-1538.
418. Surgical treatment for hydrosalpinx prior to in-vitro fertilization embryo transfer: a network meta-analysis / A. Tsiami [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 48 (4). – P. 434-445.
419. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilization / N.P. Johnson [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2010. – Vol. 3. – P.: CD002125.
420. Survival factors regulating ovarian apoptosis – dependence on follicle differentiation / E. Markström [et al.] // *Reproduction.* – 2002. – Vol. 123 (1). – P. 23-30.
421. Tal, R. The role of angiogenic factors in fibroid pathogenesis: potential implications for future therapy / R. Tal, J.H. Segars // *Hum. Reprod. Update.* – 2014. – Vol. 20 (2). – P. 194-216.

422. Tarín, J.J. Cellular and morphological traits of oocytes retrieved from aging mice after exogenous ovarian stimulation / J.J. Tarín, S. Pérez-Albalá, A. Cano // *Biol. Reprod.* – 2001. – Vol. 65 (1). – P. 141-150.
423. Te Velde, E.R. The variability of female reproductive ageing / E.R. te Velde, P.L. Pearson // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 8 (2). – P. 141-154.
424. Telfer, E.E. Germline stem cells in the postnatal mammalian ovary: a phenomenon of prosimian primates and mice? / E.E. Telfer // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2004. – Vol. 2. – P. 24.
425. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion / Practice Committee of the ASRM // *Fertil. Steril.* – 2015. – Vol. 103 (3). – P. e9-e17.
426. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion / S. Pfeifer [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98 (6). – P. 1407-1415.
427. Testosterone potentially triggers meiotic resumption by activation of intra-oocyte SRC and MAPK in porcine oocytes / M. Li [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2008. – Vol. 79 (5). – P. 897-905.
428. The accuracy of multivariate models predicting ovarian reserve and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis / T.E. Verhagen [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2008. – Vol. 14 (2). – P. 95-100.
429. The age of ovarian failure following premenopausal hysterectomy with ovarian conservation / M.D. Read [et al.] // *Menopause Int.* – 2010. – Vol. 16 (2). – P. 56-59.
430. The association of hysterectomy and menopause: a prospective cohort study / C.M. Farquhar [et al.] // *BJOG.* – 2005. – Vol. 112 (7). – P. 956-962.
431. The clinical significance of the retrieval of a low number of oocytes following mild ovarian stimulation for IVF: a meta-analysis / M.F. Verberg [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2009. – Vol. 15 (1). – P. 5-12.
432. The contribution of mitochondrial function to reproductive aging / Y. Bentov [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2011. – Vol. 28 (9). – P. 773-783.
433. The direct and indirect costs of uterine fibroid tumors: a systematic review of the literature between 2000 and 2013 / A.M. Soliman [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 213 (2). – P. 141-160.
434. The effect of abdominal radical trachelectomy on ovarian reserve: serial changes in serum anti-müllerian hormone levels / M. Muraji [et al.] // *J. Cancer.* – 2012. – Vol. 3. – P. 191-195.
435. The effect of bipolar electrocoagulation during ovarian cystectomy on ovarian reserve: a systematic review / V. Pergialiotis [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 213 (5). – P. 620-628.
436. The effect of hysterectomy and endometrial ablation on follicle stimulating hormone (FSH) levels up to 1 year after surgery / J.G. Derksen [et al.] // *Maturitas.* – 1998. – Vol. 29 (2). – P. 133-138.
437. The Effect of Preimplantation Genetic Screening on Implantation Rate in Women over 35 Years of Age / M. Moayeri [et al.] // *Cell J.* – 2016. – Vol. 18 (1). – P. 13-20.

438. The effect of total abdominal hysterectomy on serum anti-Müllerian hormone levels: a pilot study / C. Atabekoğlu [et al.] // *Climacteric*. – 2012. – Vol. 15 (4). – P. 393-397.
439. The effects of total abdominal hysterectomy on ovarian function – serial changes in serum anti-müllerian hormone, FSH and estradiol levels / L. Gökgözoğlu [et al.] // *Adv. Clin. Exp. Med.* – 2014. – Vol. 23 (5). – P. 821-825.
440. The effects of uterine artery embolisation and surgical treatment on ovarian function in women with uterine fibroids / S. Rashid [et al.] // *BJOG*. – 2010. – Vol. 117 (8). – P. 985-989.
441. The fallopian tube: primary site of most pelvic high-grade serous carcinomas / S. Salvador [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer*. – 2009. – Vol. 19 (1). – P. 58-64.
442. The FIGO recommendations on terminologies and definitions for normal and abnormal uterine bleeding / I.S. Fraser [et al.] // *Semin. Reprod. Med.* – 2011. – Vol. 29 (5). – P. 383-390.
443. The fundamental role of bone morphogenetic protein 15 in ovarian function and its involvement in female fertility disorders / L. Persani [et al.] // *Hum. Reprod. Update*. – 2014. – Vol. 20 (6). – P. 869-883.
444. The Impact of Uterine Leiomyomas: A National Survey of Affected Women / B.J. Borah [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 209 (4). – P. 319.
445. The management of uterine leiomyomas / G.A. Vilos [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Can.* – 2015. – Vol. 37 (2). – P. 157-181.
446. The neonatal marmoset monkey ovary is very primitive exhibiting many oogonia / B. Fereydouni [et al.] // *Reproduction*. – 2014. – Vol. 148 (2). – P. 237-247.
447. The ovarian reserve of primordial follicles and the dynamic reserve of antral growing follicles: what is the link? / D. Monniaux [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2014. – Vol. 90 (4). – P. 85.
448. The rat estrous cycle revisited: a quantitative and qualitative analysis / C.C. Paccola [et al.] // *Anim. Reprod.* – 2013. – Vol. 10 (4). – P. 677-683.
449. The relationship between age at menarche and infertility among Chinese rural women / J. Chen [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2015. – Vol. 194. – P. 68-72.
450. The risk of hydrosalpinx formation and adnexectomy following tubal ligation and subsequent hysterectomy: a historical cohort study / A.N. Morse [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2006. – Vol. 194 (5). – P. 1273-1276.
451. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count / S.L. Broer [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 91 (3). – P. 705-714.
452. The time interval between hCG priming and oocyte retrieval in ART program: a meta-analysis / W. Wang [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2011. – Vol. 28 (10). – P. 901-910.
453. The use of androgens or androgen-modulating agents in poor responders undergoing in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis / J.K. Bosdou [et al.] // *Hum. Reprod. Update*. – 2012. – Vol. 18 (2). – P. 127-145.
454. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia / V. Chandra [et al.] // *J. Gynecol. Oncol.* – 2016. – Vol. 27 (1). – P. e8.

455. Three to five years later: long-term effects of prophylactic bilateral salpingectomy on ovarian function / R. Venturella // *J. Minim. Invasive Gynecol.* – 2016. – pii: S1553-4650(16)31040-8. – doi: 10.1016/j.jmig.2016.08.833.
456. Tilly, J.L. Germline energetics, aging and female infertility / J.L. Tilly, D.A. Sinclair // *Cell. Metab.* – 2013. – Vol. 17 (6). – P. 838-850.
457. Tinkanen, H. The association between hormone levels and vascular resistance in uterine and ovarian arteries in spontaneous menstrual cycles – a Doppler ultrasound study / H. Tinkanen, E. Kujansuu, P. Laippala // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 1995. – Vol. 74 (4). – P. 297-301.
458. Toner, J.P. Why we may abandon basal follicle-stimulating hormone testing: a sea change in determining ovarian reserve using antimüllerian hormone / J.P. Toner, D.B. Seifer // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 99 (7). – P. 1825-1830.
459. Too old to have children? Lessons from natural fertility populations / M.J. Eijkemans [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2014. – Vol. 29 (6). – P. 1304-1312.
460. Topsoe, M.F. The Danish Hysterectomy and Hysteroscopy Database / M.F. Topsoe, E.H. Ibfelt, A. Settnes // *Clin. Epidemiol.* – 2016. – Vol. 8. – P. 515-520.
461. Total salpingectomy during abdominal hysterectomy: effects on ovarian reserve and ovarian stromal blood flow / M. Sezik [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2007. – Vol. 33 (6). – P. 863-869.
462. Tsc/mTORC1 signaling in oocytes governs the quiescence and activation of primordial follicles / D. Adhikari [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2010. – Vol. 19 (3). – P. 397-410.
463. Tubal Factor Infertility and Perinatal Risk After Assisted Reproductive Technology / J.F. Kawwass [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 121 (6). – P. 1263-1271.
464. Two classes of ovarian primordial follicles exhibit distinct developmental dynamics and physiological functions / W. Zheng [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2014. – Vol. 23 (4). – P. 920-928.
465. Uimari, O. Do symptomatic endometriosis and uterine fibroids appear together? / O. Uimari, I. Järvelä, M. Ryyänen // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2011. – Vol. 4 (1). – P. 34-38.
466. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count / D.J. Hendriks [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 87 (4). – P. 764-775.
467. Ulug, P. Evaluation of the effects of single or multiple dose methotrexate administration, salpingectomy on ovarian reserve of rat with the measurement of anti-Müllerian hormone (AMH) levels and histological analysis / P. Ulug, G. Oner // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2014. – Vol. 181. – P. 205-209.
468. Understanding variation in human fertility: what can we learn from evolutionary demography? / R. Sear [et al.] // *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* – 2016. – Vol. 371 (1692). – P. 20150144.
469. Unique geometry of sister kinetochores in human oocytes during meiosis I may explain maternal age-associated increases in chromosomal abnormalities / J. Patel [et al.] // *Biol. Open.* – 2015. – Vol. 5 (2). – P. 178-184.

470. Uterine fibroids: clinical manifestations and contemporary management / L. Doherty [et al.] // *Reprod Sci.* – 2014. – Vol. 21 (9). – P. 1067-1092.
471. Uterine leiomyoma: understanding the impact of symptoms on womens' lives / L. Brito [et al.] // *Reprod. Health.* – 2014. – Vol. 11. – P. 10.
472. Value of ultrasonography in the diagnosis of polycystic ovary syndrome – literature review / M. Bachanek [et al.] // *J. Ultrasonography.* – 2015. – Vol. 15 (63). – P. 410-422.
473. Van der Wal, J.B. Biology of the peritoneum in normal homeostasis and after surgical trauma / J.B. van der Wal, J. Jeekel // *Colorectal Dis.* – 2007. – Vol. 9 (Suppl. 2). – P. 9-13.
474. Vanholder, T. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review / T. Vanholder, G. Opsomer, A. de Kruif // *Reprod. Nutr. Dev.* – 2006. – Vol. 46 (2). – P. 105-119.
475. Virant-Klun, I. Postnatal oogenesis in humans: a review of recent findings / I. Virant-Klun // *Stem Cells Cloning.* – 2015. – Vol. 8. – P. 49-60.
476. Visser, J.A. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis / J.A. Visser, A.P. Themmen // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 234 (1–2). – P. 81-86.
477. Vogel, G. Reproductive biology. Potential egg stem cells reignite debate / G. Vogel // *Science.* – 2012. – Vol. 335 (6072). – P. 1029-1030.
478. Vuorento, T. Follow-up of ovarian endocrine function in premenopausal women after hysterectomy by daily measurements of salivary progesterone / T. Vuorento, J. Mäenpää, I. Huhtaniemi // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 1992. – Vol. 36 (5). – P. 505-510.
479. Walker, L.C. Mosaic aging / L.C. Walker, J.G. Herndon // *Med. Hypotheses.* – 2010. – Vol. 74 (6). – P. 1048-1051.
480. Wallace, W.H. Human ovarian reserve from conception to the menopause / W.H. Wallace, T.W. Kelsey // *PLoS One.* – 2010. – Vol. 5 (1). – P. e8772.
481. Wallach, E.E. Uterine myomas: an overview of development, clinical features, and management / E.E. Wallach, N.F. Vlahos // *Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 104 (2). – P. 393-406.
482. Walters, K.A. Androgen actions and the ovary / K.A. Walters, C.M. Allan, D.J. Handelsman // *Biol. Reprod.* – 2008. – Vol. 78 (3). – P. 380-389.
483. Walters, K.A. Molecular insights into androgen actions in male and female reproductive function from androgen receptor knockout models / K.A. Walters, U. Simanainen, D.J. Handelsman // *Hum. Reprod. Update.* – 2010. – Vol. 16 (5). – P. 543-558.
484. Wassarman, P.M. Influence of the zona pellucida of the mouse egg on folliculogenesis and fertility / P.M. Wassarman, E.S. Litscher // *Int. J. Dev. Biol.* – 2012. – Vol. 56 (10–12). – P. 833-839.
485. Watt, D.G. Routine clinical markers of the magnitude of the systemic inflammatory response after elective operation: a systematic review / D.G. Watt, P.G. Horgan, D.C. McMillan // *Surgery.* – 2015. – Vol. 157 (2). – P. 362-380.
486. What is the "ovarian reserve"? / J.K. Findlay [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2015. – Vol. 103 (3). – P. 628-630.

487. Which follicles make the most anti-Mullerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection / J.V. Jeppesen [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 19 (8). – P. 519-527.
488. Whitaker, L. Abnormal uterine bleeding / L. Whitaker, H.O. Critchley // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2016. – Vol. 34. – P. 54-65.
489. Why do people postpone parenthood? Reasons and social policy incentives / M. Mills [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2011. – Vol. 17 (6). – P. 848-860.
490. Williams, C.J. *Morphology and Physiology of the Ovary*. Endotext [Electronic Resource] / C.J. Williams, G.F. Erickson // L.J. De Groot [et al.]. – South Dartmouth (MA): MDTtext.com. – 2000 (Updated 2012). – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278951>.
491. Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle-stimulating hormone / D.B. Seifer [et al.] // *Fertil. Steril.* – 1999. – Vol. 72 (1). – P. 63-65.
492. *World Fertility Patterns* [Electronic Resource] // UN Data Booklet (ST/ESA/SER.A/370) – 2015. – URL: <http://www.un.org>.
493. *World Population Prospects* [Electronic Resource] // UN Data Booklet (ESA/P/WP.241) – 2015. – URL: <https://esa.un.org>.
494. Xiangying, H. The effect of hysterectomy on ovarian blood supply and endocrine function / H. Xiangying, H. Lili, S. Yifu // *Climacteric.* – 2006. – Vol. 9 (4). – P. 283-289.
495. Yang, M.Y. Testosterone stimulates the primary to secondary follicle transition in bovine follicles in vitro / M.Y. Yang, J.E. Fortune // *Biol. Reprod.* – 2006. – Vol. 75 (6). – P. 924-932.
496. Ye, X.P. A retrospective analysis of the effect of salpingectomy on serum antiMüllerian hormone level and ovarian reserve / X.P. Ye, Y.Z. Yang, X.X. Sun // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 212 (1). – P. 53. e1-10.
497. Young, J.M. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle / J.M. Young, A.S. McNeilly // *Reproduction.* – 2010. – Vol. 140 (4). – P. 489-504.
498. Younis, J.S. The Bologna criteria for poor ovarian response: a contemporary critical appraisal / J.S. Younis, M. Ben-Ami, I. Ben-Shlomo // *J. Ovarian Res.* – 2015. – Vol. 8. – P. 76.
499. Zepiridis, L.I. Infertility and uterine fibroids / L.I. Zepiridis, G.F. Grimbizis, B.C. Tarlatzis // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2016. – Vol. 34. – P. 66-73.
500. Zhao, W.H. Pelvic inflammatory disease: a retrospective clinical analysis of 1,922 cases in North China / W.H. Zhao, M. Hao // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2014. – Vol. 77 (3). – P. 169-175.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1.

ММИ Куппермана-Уваровой (1983)

Симптомы, баллы	Степень выраженности, баллы		
	1	2	3
нейровегетативные			
Повышенное АД, мм Hg	150/90	160/100	> 160/100
Пониженное АД, мм Hg	100/70	100/70	90/60
Головные боли	редко	часто	постоянно
Вестибулопатии	+	++	+++
Сердцебиения в покое	1-2	1-2	1-2
Непереносимость высокой Т	+	++	+++
Судороги/онемение	+	++	+++
Гусиная кожа	изредка	ночью	всегда
Дермографизм	белый	красный	красный
Сухость кожи	умеренная	кератоз	короста
Потливость	+	++	+++
Отечность	лица, слабая	век	постоянно
Аллергические реакции	ринит	крапивница	о. Квинке
Экзофтальм, блеск глаз	+	++	+++
Повышенная возбудимость	+	++	+++
Сонливость	утром	вечером	постоянно
Нарушения сна	при засыпании	прерывисто	бессоница
Приливы жара/день	< 10	10-20	> 20
Приступы удушья/нед	1-2	1-2	1-2
Симптоадреналовые кризы	1-2	1-2	1-2
метаболические/эндокринные			
Ожирение, степень	1	2	3
Тиреоидная дисфункция	+	++	+++
Сахарный диабет	+	++	+++
Гиперплазия мол.желез	диффузная	узловатая	ф/аденом
Мышечно-суставные боли	редко	периодически	постоянно
Жажда	+	++	+++
Атрофия гениталий	+	++	+++
психоэмоциональные			
Утомляемость	+	++	+++
Снижение памяти	+	++	+++
Слезливость, возбудимость	+	++	+++
Изменение аппетита	повышение	снижение	потеря
Навязчивые идеи	подозрительность	страхи	суицид
Изменение настроения	лабильное	депрессии	меланхолия
Изменение либидо	угнетение	отсутствие	повышение

Приложение 2.

Шкала оценки ММИ Куппермана-Уваровой (1983)

Симптомы	Степень выраженности		
	легкая	умеренная	тяжелая
Нейровегетативные	10-20	21-30	>30
Обменноэндокринные	1-7	8-14	>14
Психоэмоциональные	1-7	8-14	>14
ММИ	12-34	35-58	>58

